Rapport final

"Mise au point d'une méthodologie analytique pour la caractérisation des produits issus de la liquéfaction de la biomasse et de la tourbe"

Contrat du Ministère des
Approvisionnements et Services
20ST.31926-3-5040

Préparé par: J. Bouchard, M.Sc.

Professeur titulaire
de laboratoire: E. Chornet, Ph.D., ing.

Résumé

Le présent rapport fait état du développement du laboratoire analytique dans le but de mettre au point une méthodologie pour la caractérisation des produits issus de la liquéfaction du bois et de la tourbe. Suite à une présentation sur la gestion du laboratoire, sur les méthodes analytiques présentement en fonction et celles en développement, sur les projets de recherche où le laboratoire est directement impliqué et sur les activités complémentaires du laboratoire, une copie du cahier analytique regroupant les méthodes éprouvées que nous employons est annexée. Il apparaît que la méthodologie analytique développée permet une analyse satisfaisante des échantillons pour l'optimisation des procédés et que les résultats nous ont incité à mettre en route des projets de recherches à forte composante analytique. L'orientation future du laboratoire est discutée et des recommandations sont énoncées.

Remerciements

Je tiens premièrement à exprimer toute ma reconnaissance à M. E. Chornet et M. R.P. Overend pour m'avoir fait confiance et m'avoir laissé une quasi-totale liberté d'action. Ces deux années passées à leur service m'ont permis de me réaliser au-delà de mes espérances sur plusieurs points.

Je remercie personnellement les trois techniciens, Mme L. Bedford, M. T.S. Nguyen et M. M. Trottier qui m'ont rapidement accordé leur confiance. Ce travail n'aurait pu être possible sans leur professionnalisme et leur intérêt.

Merci également à Mme M. Heitz qui a assuré le transfert des connaissances et m'a permis de prendre en charge un laboratoire fonctionnel et bien établi.

Je remercie Mme L. Jaulin et M. S. Léger qui, tout au long de ce contrat, m'ont aidé par des discussions stimulantes et des critiques constructives à parfaire mon travail. Merci à Mme D. Poirier et Mme L. Chapdelaine qui ont fait tout en leur pouvoir pour que mes textes soient prêts à temps.

Merci finalement à toute l'équipe qui m'a permis de nouvelles amitiés et d'apprendre tant au niveau professionnel que des relations humaines.

Table des matières

Page

Résumé
Remerciements
Table des matières
Introduction 1

Section I: Description des différents procédés UDES 4

1.1 Procédés de fractionnement: UDES-F 5

1.2 Procédés de solvolyse: UDES-S 6

1.3 Procédés d'hydrolyse acide: UDES-H 7

Section II: Fonctionnement et gestion du laboratoire analytique 8

2.1 Historique 9

2.2 Fontionnement du laboratoire analytique 17
2.2.1 Objectifs 17
2.2.2 Organisation du laboratoire 17
2.2.3 Contrôle au laboratoire analytique 19

2.3 Développement du laboratoire analytique 20
2.3.1 Productivité 20
2.3.2 Importance de la recherche et du développement 21
2.3.3 Intégration des étudiants gradués au laboratoire analytique 22
2.3.4 Instrumentation 23
2.3.5 Conclusion 23

Section III: Méthodes analytiques présentement en fonction 25

3.1 Méthodes standards 26
3.1.1 Détermination de l'humidité 26
3.1.2 Détermination des cendres 26
3.1.3 Détermination du carbone, de l'hydrogène et de l'azote élémentaire 26
3.1.4 Dosage des métaux 26
3.1.5 Détermination de la lignine, de la cellulose et des hémicelluloses 27

3.2 Méthodes préparatives 28
3.1.1 Préparation d'échantillons libres d'extractibles 28
3.2.2 Elimination des métaux dans les filtrats d'hydrolyses 29
3.2.3 Distillation de l'éthylène glycol 29
3.2.4 Hydrolyses acides 30

Page

3.3 Méthode thermogravimétrique 32
3.3.1 Analyse des performances du système TG/DTA de Netzsch 32
3.3.2 Quantification par analyse thermogravimétrique des polymères dans les résidus de matières lignocellulosiques traitées 33

3.4 Analyse des macromolécules 35
3.4.1 Détermination du degré de polymérisation moyen de la cellulose 35
3.4.2 Détermination de l'indice de cristallinité de la cellulose 36
3.4.3 Analyse des macromolécules solubles par chromatographie d'exclusion 37
3.4.4 Ultrafiltration 40
3.4.5 Sorptométrie 41

3.5 Analyse des oligomères 41

3.6 Analyse des monomères 42
3.6.1 Monosaccharides 42
3.6.2 Analyse des monomères aromatiques 46

Section IV: Méthodes analytiques en développement 48

4.1 Méthodes standards 49
4.1.1 Dosage des pentosans 49
4.1.2 Dosage des acides uroniques 49
4.1.3 Dosage des groupements acétyls 50
4.1.4 Dosage des groupements méthoxyl de la lignine . 50
4.1.5 Dosage enzymatique du glucose 50

4.2 Méthodes préparatives 51
4.2.1 Séparation aromatiques/carbohydrates dans les solutions obtenues par traitement thermomécanique 51
4.2.2 Elimination du sulfate de sodium des échantillons d'hydrolyses 52
4.2.3 Modification des résidus cellulosiques 53

4.3 Méthodes thermogravimétriques 53
4.3.1 TGA/DTA des tourbes 53
4.3.2 DSC de celluloses 53

4.4 Analyses de macromolécules solubles 54
4.4.1 Chromatographie d'exclusion en milieu organique 54
4.4.2 Spectrophotométrie UV-VIS 54

4.5 Spectroscopie infra-rouge 55

Page

Section V: Projets de recherche où le laboratoire analytique est directement 56

5.1 Introduction 57

5.2 Etude structurale et chimique de la cellulose 57
5.2.1 Hydrolyse acide de la cellulose 57
5.2.2 Traitement solvolytique de la cellulose 59
5.2.3 Futur 59

5.3 Hydrolyse de l'amidon 63

5.4 Traitement thermique à la vapeur avec ou sans explosion 63

5.5 Prétraitement des matières lignocellulosiques 69

5.6 Prétraitement et hydrolyse de la tourbe 72

Section VI: Activités complémentaires 74

6.1 Publications, conférences, rapports 75
6.1.1 Publications 75
6.1.2 Conférences 76
6.1.3 Rapports 77

6.2 Bibliographie analytique 77

Conclusion 80

Annexe 1: Cahier analytique du groupe Chornet-Overend

Annexe 2: Texte de la publication soumise à "Biomass"

Introduction

Dans la perspective de la recherche sur l'énergie disponible à partir de la biomasse, le groupe de recherche des professeurs E. Chornet et R.P. Overend s'est intéressé à l'aspect énergétique de la liquéfaction de la biomasse et de la tourbe.

Comme suite logique au développement de nouveaux procédés de liquéfaction, le développement d'un laboratoire analytique de caractérisation s'imposait.

Ce rapport couvre les activités du laboratoire analytique du groupe de recherche "E. Chornet, R.P. Overend" pour la période du 1er juin 1984 au 31 mars 1986.

Le mandat que nous avions reçu consistait en la poursuite de la mise au point d'une méthodologie analytique pour la caractérisation des produits issus de la liquéfaction de la biomasse et de la tourbe. De façon plus précise, ce mandat ne se limitait pas à un simple exercice de mise au point de techniques analytiques mais il impliquait de continuer à développer un laboratoire analytique complet dans le but d'atteindre des standards de qualité ainsi qu'une expertise permettant de le comparer aux autres laboratoires oeuvrant dans le même domaine.

Le présent rapport est divisé en six sections et comprend à l'annexe 1, une copie du cahier analytique où figure une description détaillée de toutes les méthodes analytiques éprouvées qui sont employées au laboratoire.

La section I décrit les procédés développés à Sherbrooke et les types d'échantillons que nous devons analyser.

La section II traite de l'organisation existante au laboratoire analytique.

La section III traite des méthodes analytiques qui figurent au cahier analytique et qui sont éprouvées et employées de façon routinière. Elle met en évidence leurs faiblesses et leurs points forts et permet une description des problèmes que nous rencontrons ainsi que les solutions que nous envisageons.

La section IV traite des méthodes présentement en développement au laboratoire et indique, par conséquent, les orientations futures du laboratoire analytique.

La section V présente les projets de recherche du groupe où l'implication du laboratoire est particulièrement importante et la section VI regroupe les activités complémentaires telles que les publications, la bibliographie, etc.

SECTION I

DESCRIPTION DES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS UDES

Au cours des années 70, les recherches sur la valorisation de la biomasse ont porté sur des procédés de liquéfaction intégrale de la biomasse dans le but de produire un combustible bon marché.

La problématique énergétique s'étant considérablement modifiée dans les années suivantes, d'autres avenues doivent maintenant être envisagées pour la valorisation de la biomasse.

L'option retenue par le groupe de l'Université de Sherbrooke est de procéder au fractionnement de la biomasse en ses constituants primaires (cellulose, hémicelluloses et lignine) pour, par la suite, valoriser ces produits de façon indépendante. Une statégie de co-produits est ainsi développée. L'utilisation de certains de ces co-produits dans des filières énergétiques est toujours possible. Ainsi les hydrates de carbone peuvent être dépolymérisés et les sucres résultant fermentés en alcools; la lignine peut être traitée par hydrocrackage et des BTX et des huiles sont obtenues.

1.1 Procédés de fractionnement: UDES-F

Il s'agit de procédés qui ont été appliqués au bois, à la tourbe ainsi qu'aux tiges de maïs. Deux systèmes expérimentaux sont utilisés à ces fins:

1- Système de réacteur en cascade (1, 2, 3)
Traitement de suspensions aqueuses contenant de 30 à 50 g de biomasse moulue. Le traitement inclut le préchauffage à la température désirée, la décharge en travers d'un orifice à une pression différentielle convenable et la réaction en fonction des variables température et temps.

---

(1) Chornet, E., Eugène, D. & Overend, R.P., (1985), In: Fundamentals of thermochemical biomass conversion. R.P. Overend, T.A. Milne and L.K. Mudge (eds.), Elsevier Applied Science Publishers, pp. 465-8.

(2) Léger, S. (1985), Déshydratation de la tourbe par carbonisation à l'état humide. M.Sc. Thesis, Univ. of Sherbrooke, Québec.

(3) Abatzoglou, N. (1985), Aspects cinétiques de l'hydrolyse acide de la cellulose, M.Sc. Thesis, Univ. of Sherbrooke, Québec.

2- Unité de développement de procédé (en continu) (1)
Cette unité est conçue pour traiter thermo-mécaniquement des suspensions aqueuses de consistance moyenne de biomasse avec un débit de 1 ℓ/min en utilisant des vannes d'homogénéisation.

Ces deux procédés donnent deux fractions qui doivent, par la suite, être analysés.

1- Une fraction solide contenant la cellulose, une importante partie de la lignine et, dépendant des conditions, peu ou pas d'hémicelluloses.

2- Une fraction aqueuse riche en hémicelluloses peu hydrolysées (pas de monosaccharides présents) et contenant de 25 à 50% de la lignine initiale.

1.2 Procédé de solvolyse: UDES-S

Une unité de développement de procédé permettant de travailler en milieu organique en utilisant des vannes d'homogénéisation permet de procéder à la solvolyse sélective du bois (2). Des travaux importants (3) ont été réalisés avec l'éthylène glycol comme solvant et ont montré qu'il était possible de solvater complètement les hémicelluloses et la lignine pour, par la suite, aborder une étape de dépolymérisation de la cellulose.

Le résidu obtenu par ce procédé est riche en cellulose et la caractérisation de cette dernière est effectuée au laboratoire. La fraction

---

(1) Koeberle, P., Meloche, F., Chauvette, G., Ménard, H., Chornet, E., Jaulin, L., Heitz, M. & Overend, R.P. (1984), In: Fifth Canadien Bioenergy R&D Seminar, S. Hasnain (ed.), Elsevier Applied Science Publishers, pp. 233-6.

(2) Chornet, E., Eugène, D., Lemonnier, J.P. Vanasse, C., Heitz, M. & Overend, R.P. (1984), In: Fifth Canadian Bioenergy R&D Seminar, S. Hasnain (ed.), Elsevier Applied Science Publishers, pp. 465-8.

(3) Vanasse, C., (1986), M.Sc. Thesis, Univ. de Sherbrooke, Québec.

solubilisée dans l'éthylène glycol n'a pas été caractérisée jusqu'à aujourd'hui. Les celluloses obtenues peuvent, par la suite, être utilisées dans des expériences d'hydrolyses acides ou enzymatiques.

1.3 Procédé d'hydrolyse acide: UDES-H

Les deux systèmes expérimentaux décrits à la section 1.1 sont utilisés pour les expériences d'hydrolyses. Dans le système en cascade, l'acide est ajouté à la suspension de biomasse alors que dans le système en continu, un système d'injection automatique est employé.

Un nombre important d'expériences sur l'hydrolyse de la cellulose ont été effectuées avec les deux systèmes. La caractérisation de la fraction soluble a permis de mettre en évidence la présence d'oligomères solubles comme intermédiaires de réaction (1). La caractérisation du résidu solide semble indiquer que l'hydrolyse acide ne conduit pas uniquement à une dépolymérisation de la cellulose mais induit des changements structuraux relativement importants.

Un nombre important d'expériences sur l'hydrolyse de l'amidon ont aussi été réalisées et il a non seulement été démontré qu'il était possible d'obtenir des conversions de 100% et un pourcentage de glucose supérieur à 85% en employant une faible concentration d'acide (< 0.5%) et de très court temps de résidence (< 20 secondes) mais aussi que des conditions d'hydrolyses précises nous permettaient de contrôler la nature des composants du filtrat et d'opter pour la production spécifique de polymères, d'oligomères ou de glucose.

---

(1) Abatzoglou, N., J. Bouchard, E. Chornet and R.P. Overend (1985), Acid depolymerization of cellulose in aqueous phase: experimental evidence of the significant presence of soluble oligomeric intermediates. (Soumis pour publication à Can. J. Chem. Eng., Sept.)

SECTION II

FONCTIONNEMENT ET GESTION DU LABORATOIRE ANALYTIQUE

2.1 Historique

L'activité analytique du groupe du professeur Chornet a débuté en 1979 et a progressé au rythme des besoins jusqu'en 1982. Une association avec H. Ménard du Département de chimie a permis bon nombre de développements.

Une période de développement intensif a débuté en 1983 suite à la création du laboratoire Chornet/Overend et à l'intégration du Dr. M. Heitz (1) qui a dirigé le laboratoire analytique lors de son séjour postdoctoral. Cette période (1983 à juin 1984) a permis les développements suivants:

1- Mise en fonction des méthodes standards pour l'analyse de la biomasse telle que:
   - détermination des extractibles;
   - détermination de l'holocellulose, de la cellulose et de la lignine;
   - hydrolyses des résidus cellulosiques.

2- Dosage des monosaccharides silylés par chromatographie gazeuse.

3- Développement d'une méthode de quantification des trois polymères des résidus de peuplier par analyse thermogravimétrique par G. Chauvette dans le laboratoire de J. Khorami.

4- Analyse du syringaldéhyde et de la vanilline par GC capillaire obtenue par oxydation de la lignine par le nitrobenzène.

5- Détermination de l'indice de cristallinité par G. Chauvette avec l'instrumentation du Département de physique.

6- Développement de la microscopie optique par N. Perreault au Département de biologie.

---

(1) M. Heitz, (1984), Rapport confidentiel, Univ. de Sherbrooke, CTFT (France).

7- Analyses des échantillons par microscopie électronique à l'INRS (Québec).

8- Début des travaux en hydrolyse enzymatique par E. Capek au Département de biochimie.

9- Début des travaux en SEC par H. Bergeron du Département de chimie.

10-Procédures extractives sur la lignine par différents solvants.

11-Quantification des acides humiques et fulviques dans les résidus de tourbe.

12-Choix de colonnes chromatographiques pour l'analyse des mono- et oligosaccharides par H.P.L.C.

Suite à cette période, les développements analytiques ont été effectués sous la régie du présent contrat (de juin 84 à avril 86) et les principaux développements furent les suivants:

1- Poursuite des travaux sur l'exclusion (SEC) dans notre laboratoire par HPLC et par H. Bergeron sur un système préparatif.

2- Automatisation du dosage des monosaccharides par GC et modifications afin de quantifier les sucres des filtrats de tourbes.

3- Travaux de recherche en infra-rouge (FTIR) par G. Chauvette dans le laboratoire de J. Khorami.

4- Quantification des monosaccharides par HPLC.

5- Quantification des oligosaccharides par HPLC.

6- Détermination du DP des celluloses par viscosimétrie.

7- Travaux de recherches sur les celluloses par DSC.

8- Modification et généralisation de la méthode de quantification des 3 polymères du bois par ATG.

9- Dosage des composés aromatiques par GC capillaire. Application aux procédés d'hydrogénation de l'anisole.

10-Procédures d'extraction des aromatiques des filtrats de pré-traitement du bois.

11-Post-hydrolyses des filtrats de pré-traitement du bois.

12-Travaux de recherche sur les résidus de tourbe par ATG/ATD par S. Léger.

13-Poursuite des travaux en hydrolyse enzymatique par E. Capek.

Suite à cet historique, vous trouverez un premier tableau (2.1) qui décrit la démarche analytique qui fut envisagée en 1983 et dans les tableaux 2.2 (a à d) la démarche analytique telle que nous l'entrevoyons aujourd'hui.

TABLEAU 2.1 PROTOCOLE ANALYTIQUE: Expériences (1983)
Fractionnement/Solvolyse/Hydrolyse

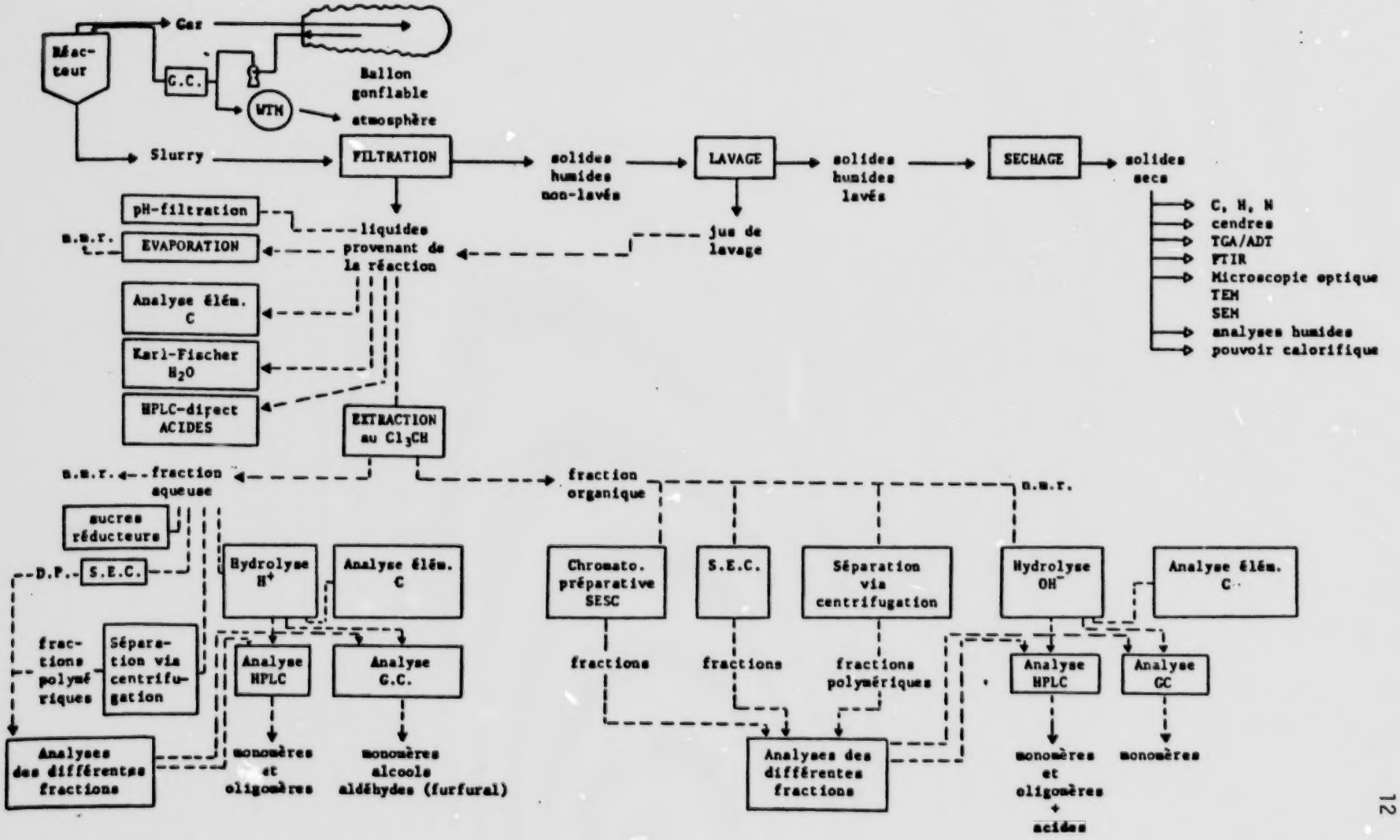


Tableau 2.2. a) Procédés Fractionnement/solvolyse/hydrolyse (1986)
Préparation des échantillons analytiques

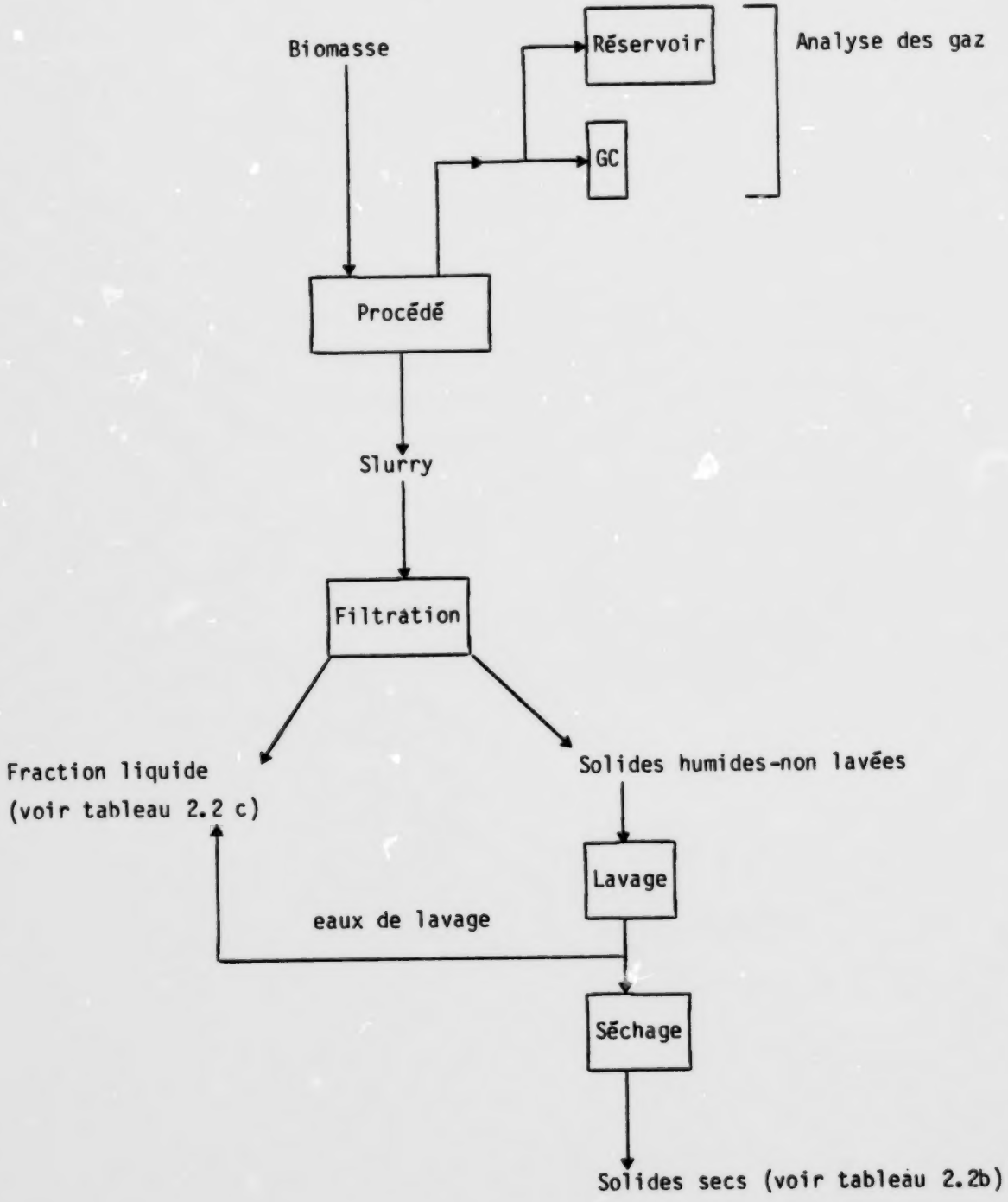
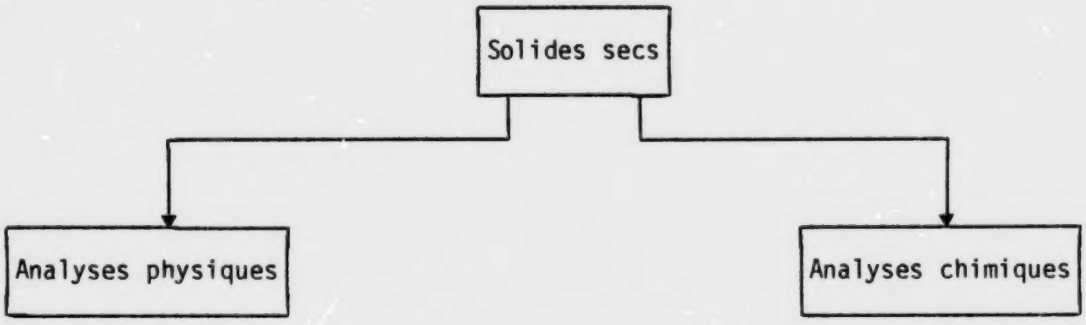


Tableau 2.2 b) Procédés Fractionnement/solvolyse/hydrolyse (1986)
Analyse des solides

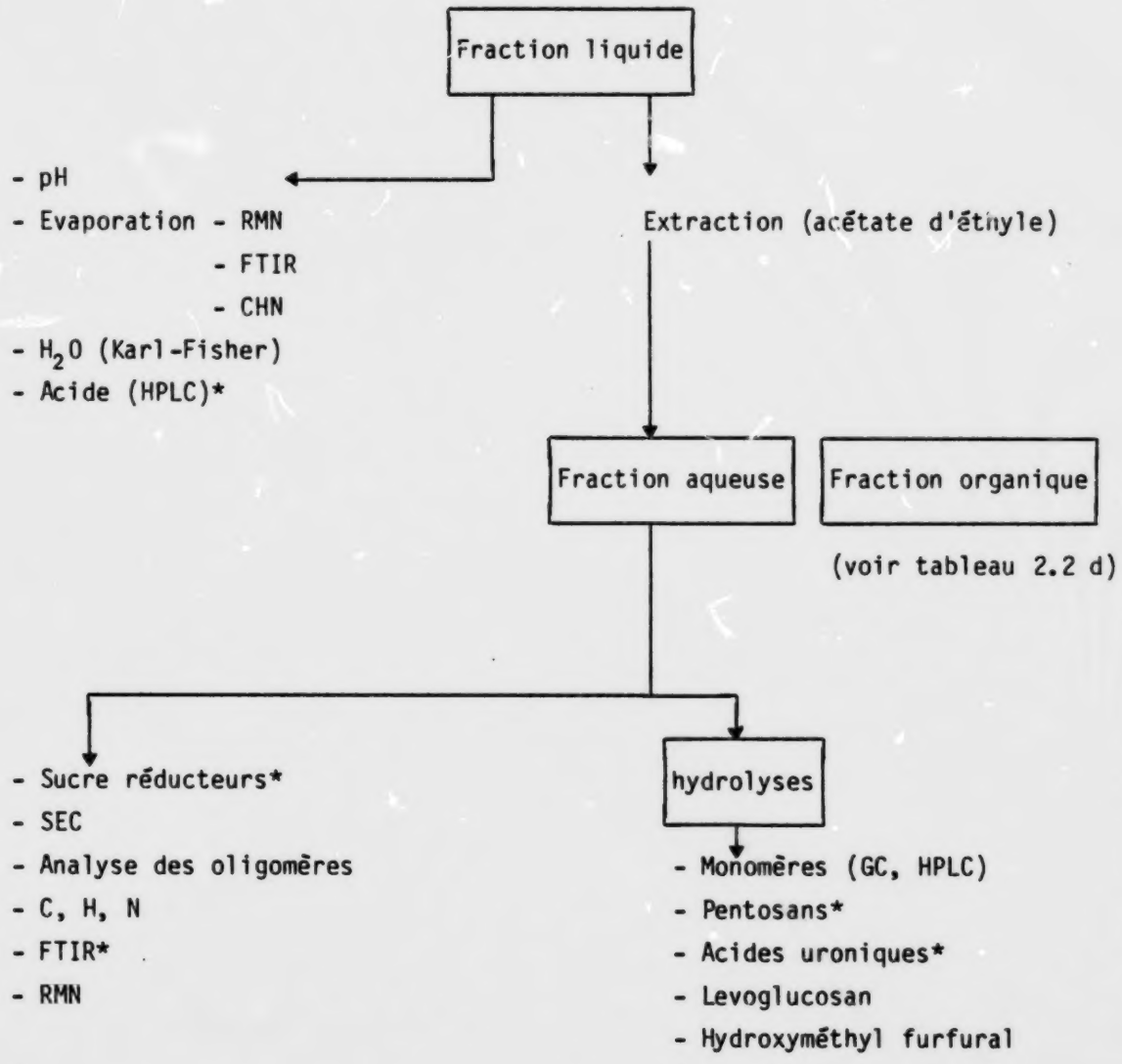


- Microscopie
  - optique
  - TEM
  - SEM
- Cendres
- Degré de polymérisation
- C, H, N
- Indice de cristallinité
- surface spécifique

- Modification chimique*
- GPC*
- FTIR*
- ATG/ATD/DSC
- Analyses humides
- Hydrolyses - monomères
- Analyse des métaux

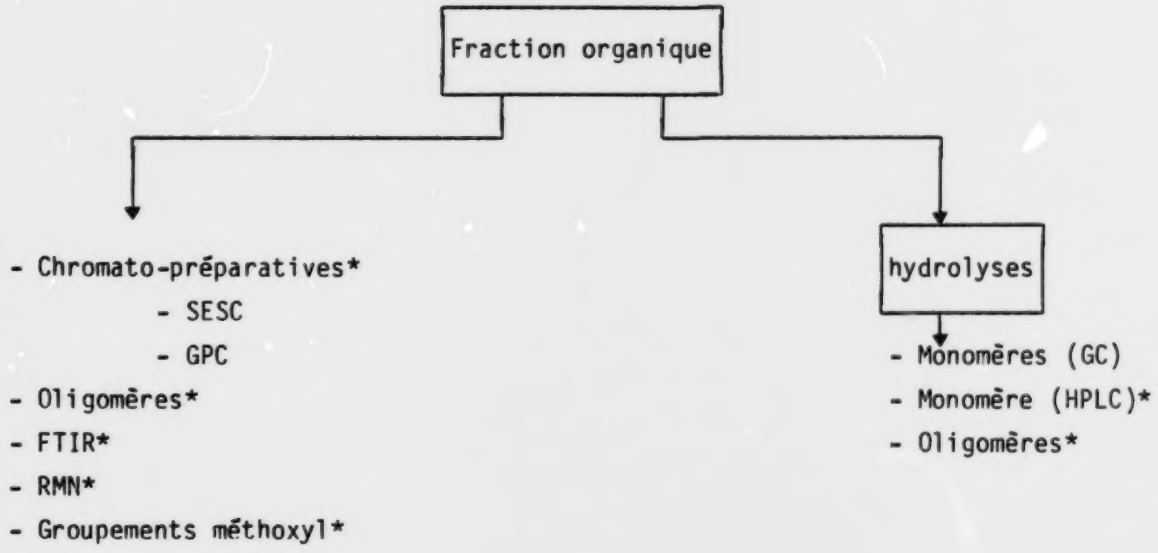
* en développement

Tableau 2.2 c) Procédés Fractionnement/solvolyse/hydrolyse (1986)
Analyse des fractions aqueuses



* en développement

Tableau 2.2 d) Procédés Fractionnement/solvolyse/hydrolyse (1986)
Analyse des fractions organiques



* en développement

2.2 Fonctionnement du laboratoire analytique

2.2.1 Objectifs

Nous avons élaboré 6 objectifs principaux que le laboratoire analytique se devait d'atteindre à moyen terme:

1- mettre au point une méthodologie analytique pour la caractérisation des produits issus du traitement de la biomasse et de la tourbe;

2- appliquer cette méthodologie aux échantillons provenant des différents montages expérimentaux en fonction de leurs particularités;

3- exercer des travaux de recherche plus fondamentaux dans le but de comprendre les mécanismes impliqués dans les changements aux niveaux structural et chimique et en assurer la publication;

4- développer les composantes auxiliaires du laboratoire, soit:
- maintenir à jour une bibliographie analytique
- augmenter le niveau d'informatisation
- développer les relations avec d'autres laboratoires;

5- maintenir une disponibilité permettant d'effectuer des analyses sur une base contractuelle;

6- maintenir une disponibilité pour assurer la formation des membres du groupe.

2.2.2 Organisation du laboratoire

Le nombre croissant et la variété d'échantillons et d'analyses à effectuer depuis l'été 1984 nous a obligé à mettre en place six mesures permettant de mieux organiser le travail:

a) Réunion hebdomadaire avec le groupe technique afin d'examiner les résultats obtenus, de répartir le travail à effectuer, de discuter des problèmes rencontrés et de s'assurer que les techniciens comprennent la relation entre leur travail et les problèmes globaux que l'on cherche à résoudre.

b) Mettre en place une division des tâches en fonction d'une spécialisation des techniciens qui deviennent ainsi responsables d'un certain nombres de techniques et d'appareils. Cette responsabilité implique plusieurs aspects:
- assurer le développement de la technique si nécessaire
- maintenir les appareils dans un état optimum
- effectuer les contrôles périodiques
- effectuer les analyses et pouvoir être critique face aux résultats obtenus
- pouvoir enseigner la technique aux membres du groupe qui désireraient l'utiliser.

c) Feuille d'identification et d'analyses
Chaque échantillon ou groupe d'échantillons similaires doivent être accompagnés d'une feuille d'identification (standardisée) où figurent les données relatives aux caractéristiques de l'échantillon ainsi que les analyses à effectuer sur cet échantillon. Ceci permet une meilleure coordination du travail ainsi que la protection contre les oublis.

d) Archives analytiques
Nous avons instauré un système de classement basé sur les types d'analyses et sur les différents types de biomasse. Ceci a pour but d'éviter la duplication des analyses et aussi de permettre des travaux de généralisation et des études statistiques.

e) Inventaire des échantillons

Nous avons dressé un inventaire des échantillons qui sont conservés afin de faciliter la tâche lors d'un besoin d'analyses subséquentes.

f) Cahier analytique

Nous avons débuté dernièrement l'ébauche d'un cahier analytique (annexe 1) qui regroupe tous les protocoles analytiques éprouvés et employés. Ces protocoles sont conçus en fonction des appareils que nous utilisons ainsi que des échantillons particuliers que nous devons analyser. Ils poursuivent deux buts: rafraîchir la mémoire des utilisateurs occasionnels et faciliter l'apprentissage des nouveaux utilisateurs.

2.2.3 Contrôle au laboratoire analytique

Un certain nombre de contrôles s'avèrent nécessaires afin d'assurer un fonctionnement sans heurt et de donner satisfaction à tous les intervenants. Voici la description des plus importants:

a) Echantillons

Nous effectuons un contrôle à l'arrivée des échantillons afin de s'assurer d'une identification et d'un entreposage adéquats. Lorsque les feuilles de demande d'analyses nous parviennent, nous essayons de rationaliser le nombre d'analyses à effectuer de façon à obtenir une information d'aussi bonne qualité sans pour autant travailler inutilement.

b) Instrumentation

Nous effectuons des contrôles périodiques sur les appareils et leurs composantes (ex.: colonnes) afin de vérifier la qualité de

leur réponse. De plus, chaque appareil possède un cahier d'utilisateur où doit figurer chaque analyse effectuée ainsi que toute modification apportée à l'instrumentation ou aux conditions d'analyses.

c) Résultats

Périodiquement, nous vérifions l'exactitude des réponses des différentes méthodes analytiques avec des standards. De plus, lorsqu'un nouveau type d'échantillons arrive au laboratoire, nous effectuons une série de contrôles afin de s'assurer que les méthodes analytiques établies donnent des résultats satisfaisants avec ce type d'échantillons.

d) Rapport des techniciens

Biannuellement, les techniciens remettent des rapports simples (≃ 4 pages) où figurent, entre autres, des statistiques sur le nombre d'analyses effectuées pour chaque technique selon trois catégories:

- routine: analyses dont les résultats sont exploités par quelqu'un extérieur au laboratoire analytique
- développement: analyses effectuées lors de la mise au point d'une technique
- recherche: analyses dont les résultats sont exploités par le laboratoire analytique.

Ceci permet de visualiser certaines inégalités et d'y apporter les correctifs nécessaires.

2.3 Développement du laboratoire analytique

2.3.1 Productivité

Etant donné les faits suivants:

- augmentation du nombre d'échantillons à analyser;
- augmentation de la variété des échantillons à analyser;

- augmentation du nombre d'analyses à effectuer sur chaque échantillon;
- augmentation du nombre de montages et d'instruments à entretenir;

nous avons été obligés de prendre différents moyens afin d'augmenter sensiblement la productivité du laboratoire analytique afin de ne pas diminuer le temps à accorder à la recherche et au développement de méthodes:

- spécialisation sectorielle des techniciens;
- regroupement des échantillons de différentes provenances pour une analyse identique (ex.: analyse élémentaire);
- automatisation de certaines analyses (ex.: monosaccharides par chromatographie en phase gazeuse);
- intégration des étudiants gradués en génie chimique au laboratoire (voir 2.3.3).

2.3.2 Importance de la recherche et du développement

Pour atteindre nos objectifs, il est nécessaire de consacrer au moins 50% de notre temps à la recherche et au développement.

Dans le tableau 2.3, la répartition du travail des techniciens, pour les périodes de août 84 à mai 85 (période 1) et de juin 85 à janvier 86 (période 2) sont représentées (%) en fonction des catégories définies à la section 2.2.3.

Tableau 2.3 Répartition du travail analytique par catégorie

Période →	Routine		Développement		Recherche		Contrat	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Technicien #1	35.0	43.3	20.8	25.5	42.6	31.2	1.6	0.3
Technicien #2	62.7	51.9	32.9	40.7	3.3	2.0	1.1	5.3
Technicien #3	46.6	88.1	32.8	8.2	19.3	2.7	1.0	1.0
Moyenne	48.1	61.1	28.8	24.8	21.7	12.0	1.2	2.2

Les catégories Recherche et Développement représentaient une moyenne de 50.5% du temps de travail pour la période 1. Cette proportion a diminué à 36.8% pour la période 2. Conséquemment, nous projetons d'accentuer les mesures visant à libérer les techniciens des analyses de routine. La principale mesure envisagée est un accroissement de l'intégration des étudiants gradués tel que définit dans la section 2.3.3.

2.3.3 Intégration des étudiants gradués au laboratoire analytique

Il est important d'accroître, dans la mesure du possible, la participation des étudiants aux analyses. Ceci dans un but de formation pour eux et d'allégement de la tâche routinière pour nous. Certaines expériences ont été tentées et les résultats furent toujours positifs:

- détermination des polymères des résidus par ATG (2 étudiants);
- viscosité (1 étudiant);
- distillation à pression réduite (2 étudiants).

Le groupe analytique a remis un rapport le 17 janvier 1986 dans lequel il divisait les techniques analytiques en 3 groupes:

Groupe I: techniques de base que la plupart des étudiants utilisent déjà;

Groupe II: méthodes instrumentales nécessitant une formation et un certain apprentissage pour devenir reproductibles;

Groupe III: méthodes instrumentales complexes qui requièrent des connaissances plus approfondies de l'analyse instrumentale ainsi qu'une certaine dextérité.

Nous sommes d'avis que les méthodes du groupe III doivent être accessibles aux gens dont le nombre d'analyses à effectuer le justifie et qui ont démontré une habileté à travailler dans un laboratoire analytique.

Les techniques des groupes I et II sont déjà accessibles à tous les étudiants.

Le tableau 2.4 présente les différentes techniques analytiques avec une évaluation du temps de formation nécessaire.

2.3.4 Instrumentation

Le laboratoire analytique est en voie d'atteindre une maturité en ce qui concerne la caractérisation physique des macromolécules et l'équipement dont nous disposons est fort adéquat.

Les développements souhaitables concernent la caractérisation chimique des produits qui composent nos échantillons. L'arrivée imminente d'un spectrophotomètre infra-rouge avec transformée de Fourier donnera une forte impulsion en ce sens au laboratoire.

Il est important de souligner le rendement que nous obtenons de l'instrumentation périssable (colonnes HPLC et GC) malgré la toxicité des échantillons pour ce type d'instrumentation. Nous avons mis beaucoup d'emphase sur la préparation des échantillons ainsi que sur la protection de ces instruments très coûteux.

2.3.5 Conclusion

Je crois que le laboratoire a maintenant atteint une vitesse de croisière qui permet d'espérer de nombreux développements ainsi qu'une contribution personnelle à l'avancement des recherches sur la biomasse pour les prochaines années. L'atmosphère de travail y est agréable et les gens se sentent impliqués et estimés. Ils accomplissent leur travail avec professionnalisme et, je pense, avec fierté.

Il ne faut cependant pas perdre de vue que pour atteindre le statut des laboratoires reconnus dans ce domaine, il faudra prendre le temps de toujours se contre-vérifier et de s'autocritiquer sans détour.

Tableau 2.4 Temps de formation nécessaires à l'apprentissage des techniques analytiques

Groupe	Techniques	Temps de formation
groupe I	humidité, cendres, pH, évaporation, extraction, filtration, distillation, hydrolyses (à reflux)	minime
groupe II	hydrolyses (autoclave)	0.5 jour
	silylation	2 heures
	surface spécifique	2 heures
	viscosité	0.5 jour
	Karl Fisher	0.5 jour
	analyses humides (bois)	1 à 2 semaines
groupe III	analyse élémentaire	2.5 jours
	ATG (polymère du bois)	2.5 jours
	GC - sucre (5880)	2 jours
	- capillaire (5890)	2 jours
	- 5730	1 jour
	HPLC - SEC, GPC	2 jours
	- Monosacc.	1 jour
	- Oligosacc.	"

Note: Les temps de formation indiqués s'appliquent à l'opération d'un appareil avec une méthode éprouvée. Tout développement ou modification de méthode nécessite une connaissance plus approfondie de l'analyse instrumentale et par conséquent une formation plus longue.

SECTION III

MÉTHODES ANALYTIQUES PRÉSENTEMENT EN FONCTION

3.1 Méthodes standards

3.1.1 Détermination de l'humidité (annexe 1, #A-1)

Cette détermination est effectuée de routine sur tout les échantillons. Ceci permet d'exprimer les résultats analytiques à partir de 100 g de bois sec.

3.1.2 Détermination des cendres (annexe 1, #A-2)

Cette méthode est souvent négligée étant donné le faible pourcentage de cendres dans certains types de bois. Elle prend cependant de l'importance si l'on considère que certains procédés ayant des taux de solubilisation (conversion) élevés auront pour effet de concentrer les matières inorganiques dans les résidus.

3.1.3 Détermination du carbone, de l'hydrogène et de l'azote élémentaire (annexe 1, #A-9)

Cette méthode était employée de routine au début du laboratoire analytique car le rapport carbone/oxygène permettait de suivre un enrichissement en lignine d'un résidu. Avec l'avènement de méthodes analytiques plus précisées, l'analyse élémentaire a perdu de l'importance et est aujourd'hui rarement utilisée pour les échantillons de biomasse.

3.1.4 Dosage des métaux

a) Les métaux principaux que l'on retrouve dans la biomasse sont dosés par absorption atomique (Na, Ca, k, Mg, Si) par une méthode impliquant une fusion des cendres avec le tétraborate de lithium (annexe 1, #A-8).

b) Suite au fait que l'emploi d'acide dans les réacteurs cause une dégradation de ces derniers, nous avons dosé par absorption atomique les métaux présents dans les filtrats d'hydrolyses. Nous y

avons trouvé des quantités appréciables de fer (Fe^{+2} et Fe^{+3}) et, à un degré moindre, du nickel et du cuivre.
Nous avons donc employé le fer comme indicateur et mis au point une méthode de dosage colorimétrique rapide de ce dernier dans les filtrats d'hydrolyses (annexe 1, #A-6).

3.1.5 Détermination de la lignine, de la cellulose et des hémicelluloses

a) Détermination de la lignine (annexe 1, #B-5)
Cette méthode gravimétrique permettant, après digestion acide des polysaccharides, de quantifier un résidu appelé "lignine de klason", fut développée pour des bois natifs. Nous sommes enclins à mettre en doute son exactitude pour des résidus de bois obtenus après divers traitements relativement sévères. Il est en effet possible qu'une partie des polysaccharides ait subi des transformations et soit plus résistante à l'hydrolyse. Il est aussi possible qu'une lignine fortement dépolymérisée ou modifiée chimiquement par un procédé puisse être soluble en milieu acide. De plus, nous ne savons pas de quel côté irons les complexes lignine-carbohydrates. C'est pour ces raisons que nous préférons la détermination de la lignine par méthode thermogravimétrique (voir 2.3).

b) Détermination de l'holocellulose (annexe 1, #B-2)
Cette méthode standard ASTM fonctionne bien mais il semble impossible de se débarrasser d'une certaine quantité de lignine résiduelle et de plus cette méthode dépolymérise la cellulose (1).

c) Détermination de la cellulose (annexe 1, #B-3 et #B-4)
Deux méthodes peuvent être employées pour déterminer la cellulose. La première est la méthode ASTM qui doit être faite sur un résidu d'holocellulose (bois délignifié) seulement. La deuxième, mise au point par Kürschner, permet d'utiliser le bois comme produit de départ.

---

(1) D. Fengel, G. Wegener, Wood, de Gruyter (1984), p. 37 et 39.

Ces deux méthodes de quantification de la cellulose ont pour effet de dépolymériser passablement la cellulose.

L'ensemble de ces méthodes comporte trois défauts principaux:

1- Une incertitude sur la quantification des hémicelluloses qui est obtenue par différence.
2- Une incertitude quant à leur applicabilité dans le cas de bois ayant subit un traitement thermo-mécanique.
3- L'impossibilité de leurs applications dans le suivi d'un procédé dû au fait qu'elles sont longues et fastidieuses à exécuter.

D'autres méthodes plus rapides sont cependant utilisées aujourd'hui pour quantifier les familles polymériques du bois:

- Méthode thermogravimétrique (voir section 3.3).
- Analyse du résidu par FTIR (1).

3.2 Méthodes préparatives

Cette sous-section regroupe les méthodes ayant pour but de préparer les échantillons pour des analyses ultérieures.

3.2.1 Préparation d'échantillons libres d'extractibles

L'élimination des extractibles d'un résidu est réalisée par deux extractions successives:

- Extraction à l'éthanol-benzène (annexe 1, #A-3b).
- Extraction à l'eau (annexe 1, #A-3a).
- Préparation d'un échantillon libre d'extractibles (annexe 1, #A-3c)

---

(1) T.P. Schultz et al. Anal. Chem. 57 (1985), 2867-69.

Etant donné sa toxicité, nous nous proposons cependant de remplacer le benzène par le toluène ou le cyclohexane tel que recommandé par Goetzler (1).

3.2.2 Elimination des métaux dans les filtrats d'hydrolyses (annexe 1, #A-7)

La présence de métaux, surtout le fer qui peut être présent en quantité importante dans les hydrolysats de bois ou de cellulose, est indésirable parce qu'ils peuvent précipiter sous forme d'oxydes ou d'hydroxydes et qu'ils peuvent endommager les colonnes chromatographiques servant aux analyses.

L'élimination des métaux est réalisée à l'aide d'une résine cationique ayant un agent chélatant à sa surface (Chellex-100, Bio-Rad) qui assure une spécificité beaucoup plus grande pour les ions divalents que pour les ions monovalents.

Le fer (Fe^{+2} et Fe^{+3}) sert d'indicateur et la solution est jugée acceptable lorsque la concentration de fer est en dessous de 20 ppm.

Des contrôles ont montré que la récupération des sucres après passage sur ces colonnes, est de 100%.

3.2.3 Distillation de l'éthylène glycol

Le solvant employé dans le réacteur de solvolyse est l'éthylène glycol. Nous avons constaté que la seule solution permettant d'obtenir un échantillon des matières solubles sec sans risque de dégrader l'échantillon par la température était de distiller l'éthylène glycol sous vide.

Pour obtenir un échantillon totalement sec, il est nécessaire de chauffer jusqu'à 100°C et de maintenir un vide inférieure à 0.3 mm de mercure. Le risque de dégradation thermique est minime dans ces conditions.

---

(1) Goetzler, M. TAPPI 65 (1982), 149-150.

3.2.4 Hydrolyses acides

Les hydrolyses acides du bois, des résidus solides ainsi que des filtrats contenant les matières qui sont passées en solution sont faites dans le but d'obtenir les monosaccharides qui peuvent être dosés par chromatographie gazeuse ou liquide.

a) Hydrolyse du bois et des résidus solides (annexe 1, #A-4)
Nous avons optimisé la méthode d'hydrolyse standard proposée par Moore et Johnson (1) pour un résidu de fractionnement de Populus deltoides.

Il s'avère cependant que malgré une bonne reproductibilité de la méthode ainsi que des facteurs de recouvrement des monosaccharides identiques à ceux de la littérature en ce qui concerne l'hydrolyse de la cellulose pure, nous éprouvons certains problèmes à récupérer tous les monosaccharides après hydrolyse du bois ou d'un résidu. Nous sommes maintenant à vérifier toutes les étapes de notre méthodologie afin de corriger cette situation.

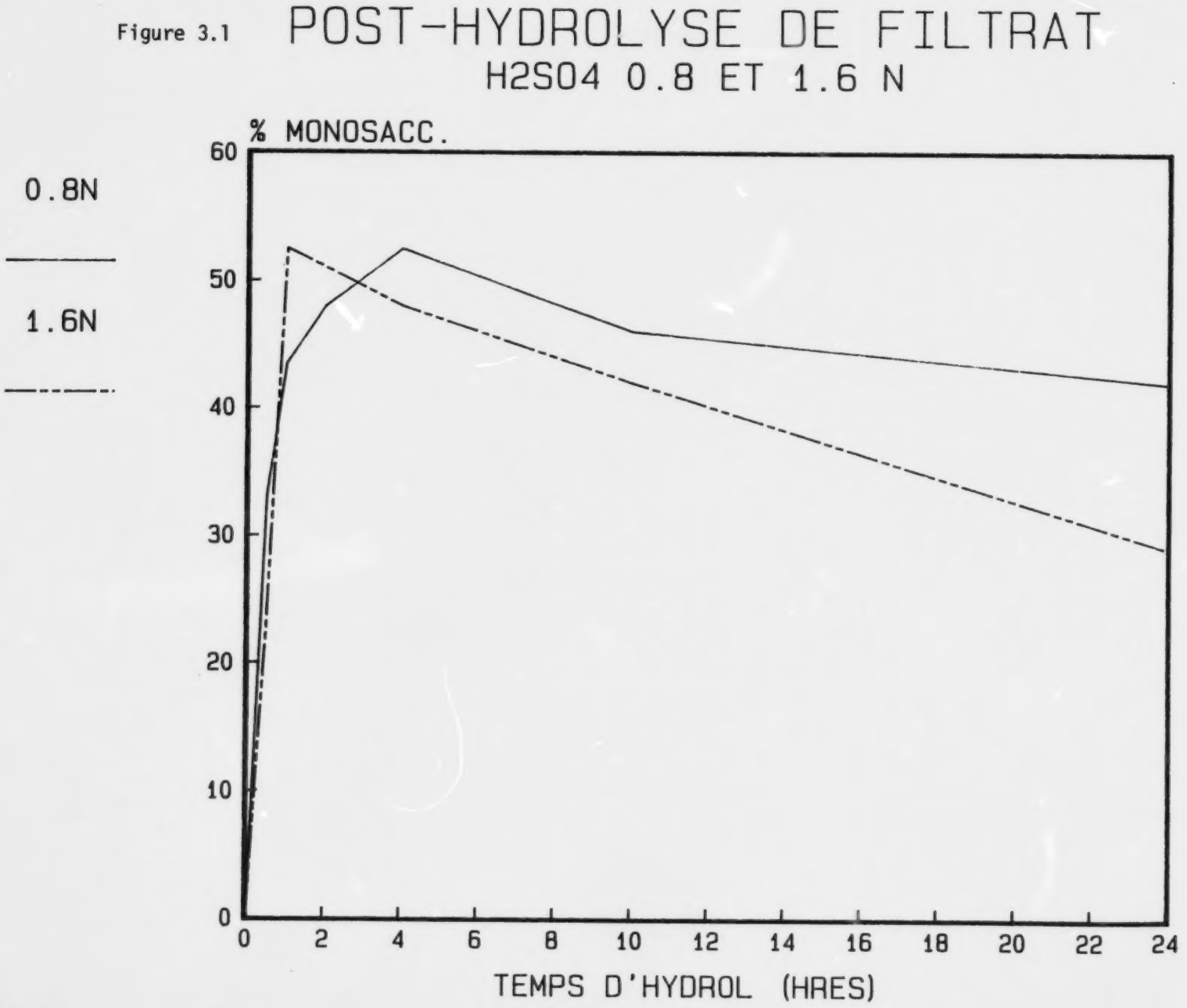
b) Hydrolyse des filtrats de traitement thermomécanique (annexe 1, #A-5)
Nous avons montré que ces filtrats, composés principalement d'hémicelluloses et de lignine, contiennent une quantité négligeable de monosaccharides. Les conditions d'hydrolyses des polysaccharides doivent par contre être douces car les hémicelluloses sont facilement hydrolysables.

Nous avons optimisé les conditions d'hydrolyse en présence d'acide sulfurique à deux concentrations: 0.8 N et 1.6 N sous reflux à 100°C en fonction du temps. Comme l'indique la Figure 3.1, une hydrolyse de 4 heures avec une concentration d'acide de 0.8 N semble adéquate.

---

(1) W.D. Moore, D.B. Johnson. Procedure for the chemical analysis of wood and wood products. U.S. Forest Products Laboratory (1967), 67-045.

Figure 3.1


POST-HYDROLYSE DE FILTRAT
H2SO4 0.8 ET 1.6 N
% MONOSACC.
0.8N
1.6N
60
50
40
30
20
10
0
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
TEMPS D'HYDROL (HRES)

Le point obscur demeure la quantification des composés aromatiques dérivés de la lignine présents dans ces filtrats et qui ne peut être obtenue que par la différence entre la masse représentée par la sommation de tous les monosaccharides obtenus après post-hydrolyse.

Lorsque la méthode de séparation lignine/carbohydrate (voir 4.2.1) sera au point, il sera alors possible d'analyser la fraction carbohydrate plus complètement soit avant hydrolyse (poly- et oligosaccharides) et après hydrolyse (monosaccharides) ainsi que de développer des méthodes de quantification directe des aromatiques.

3.3 Méthode thermogravimétrique

3.3.1 Analyse des performances du système TG/DTA de Netzsch

Lorsque nous avons commencé à analyser les performances de l'appareil, nous avons immédiatement rencontré des problèmes au niveau du logiciel d'exploitation et de traitement des données. Nous avons donc passé un certain temps à modifier le logiciel afin, premièrement, de le rendre fonctionnel et par la suite, de l'adapter à nos besoins.

Une fois ces problèmes réglés ou en voie de l'être, nous avons constaté la versatilité ainsi que les possibilités de modifications de cet appareil. Ces deux points sont importants pour un appareil destiné à la recherche. Nous devons noter, cependant, une assez grande fragilité des pièces exposées à la chaleur ainsi que la complexité d'utilisation par opposition à un instrument destiné à des analyses de routine. De plus, le personnel de Netzsch à Philadelphie nous a grandement déçu, en particulier par son inexpérience de l'analyse thermique en tant que telle.

Il y a de plus une caractéristique du four qui nous occasionne certains problèmes reliés avec le type d'échantillons que nous analysons.

En effet, la sortie des gaz est au bas du four dans une zone froide et il y a un problème de condensation des jus pyrolytiques à cet endroit. Ceci nous oblige à démonter et nettoyer périodiquement les écrans de radiation. Il est toutefois possible de changer l'intérieur du four de façon à ce que les gaz s'échappent par le haut, dans une région chaude. Cette modification coûterait environ mille dollars.

3.3.2 Quantification par analyse thermogravimétrique des polymères dans les résidus de matières lignocellulosiques traitées (annexe 1, #B-1)

Notre groupe, conjointement avec le Département de chimie, avait développé une méthode thermogravimétrique (1) permettant de quantifier l'holocellulose et la lignine dans les résidus de peuplier traités (Populus deltoides et Populus tremuloides).

Cette méthode ayant été développée sur un autre système (Perkin-Elmer) et le transfert technologique ne s'effectuant pas à un rythme et de la façon que nous le souhaitions, nous avons décidé de redévelopper la méthode par nous-mêmes. Ceci présentait de multiples avantages:

1- Simplification de la formation du technicien responsable des analyses.
2- Corroboration des résultats obtenus précédemment.
3- Optimisation des conditions d'opération en fonction de notre instrumentation.
4- Possibilité d'améliorer la méthode par nos travaux.

Nous avons obtenus des résultats très intéressants et avons apporté d'importantes modifications à la méthode originale.

Ces résultats furent présentés à "14th North American Thermal Analysis Society Conference" en septembre 1985 et accepté pour publication dans "Biomass: An International Journal". Le texte de la publication figure à l'annexe 2.

---

(1) G. Chauvette et al, Thermochimica Acta, 84 (1985), 1.

Après une étape de caractérisation de la dégradation thermique de la cellulose sous différentes conditions, nous avons diminué la vitesse de chauffage de 20°C/min à 10°C/min et incorporé une programmation de chauffage rapide au début de l'analyse. Ceci a pour effet d'augmenter la précision de l'analyse sans augmenter grandement le temps d'analyse.

Nous avons adopté une autre méthode pour calculer le ratio holocellulose/-lignine qui a pour but d'éliminer certaines erreurs systématiques et qui donne d'excellents résultats lorsque soumise à l'analyse statistique.

Nous avons développé une méthode permettant d'estimer le ratio cellulose/-hémicelluloses qui est passablement précise.

Nous avons tenté de généraliser cette méthode en l'éprouvant avec 6 types de biomasse: Populus deltoides, Populus tremuloides, Eucalyptus saligna, Wappa (mélange de variétés), tige de maïs ainsi que leurs résidus respectifs après traitement thermomécanique en phase aqueuse. Un mélange de variétés de pins et ses résidus obtenus par traitement par le procédé Stake II.

Durant la période s'étendant de décembre 1984 au 31 janvier 1986, nous avons développé la méthode et procédé à l'analyse quantitative d'environ 250 échantillons de résidus. La production quotidienne de cette méthode équivaut à la production hebdomadaire par les méthodes traditionnelles.

Nous avons standardisé le protocole d'analyse et informatisé les méthodes de calcul des résultats. Ceci a permis l'enseignement de la méthodologie à des personnes non-spécialisées qui peuvent dorénavant effectuer elles-mêmes leurs analyses.

Cette méthode n'élimine tout de même pas les méthodes standards puisqu'elle a ses limitations:

1- Etant donné que le principe de mesure repose sur la dégradation thermique de la cellulose, un résidu doit contenir un minimum de 30% de cellulose pour qu'une quantification soit possible.

2- Nous avons montré par des expériences d'hydrolyse de la cellulose qu'à mesure que l'on augmente la température de la réaction d'hydrolyse, le résidu de cellulose perd son caractère cellulosique et son comportement thermique se modifie considérablement. Ceci rend la méthode inadéquate pour la quantification de résidu de bois hydrolysés.

Il n'est pas exclu cependant, et nous projetons de le vérifier, que les méthodes standards soient elles aussi inadéquates dans ces conditions.

3- Bien que nous n'ayons pas encore rencontré ce type de comportement, tout traitement du bois qui changerait radicalement le comportement thermique d'un des polymères mettrait en doute la quantification par cette méthode. Il est possible que ceci se produise lors de l'utilisation de solvants organiques pour les traitements organo-solvolytiques. Ce n'est cependant pas le cas pour l'éthylène glycol.

3.4 Analyse des macromolécules

3.4.1 Détermination du degré de polymérisation moyen de la cellulose (annexe 1, #R-6)

La méthode viscosimétrique employée est la méthode standard (1, 2, 3) utilisant l'hydroxyde de cupriéthylènediamine comme solvant. La méthode donne d'excellents résultats pour des celluloses purifiées. Ceci est confirmé par la mesure des DP moyens de celluloses standards:

---

(1) R. Browning. Methods in wood chemistry, Vol. II (1967), p. 537-541.

(2) TAPPI T230 su.

(3) ASTM Standard D-1795.

Cellulose	DP
Avicel	225
Sigma	930
Whatman	1515
Cellobiose	1.94

Cette méthode s'avère cependant totalement inefficace lorsque la cellulose est en présence de lignine ou d'hémicelluloses comme c'est le cas dans la plupart des résidus obtenus par procédé en milieu aqueux.

Nous avons montré que la cellulose, lorsqu'isolée par une méthode standard, subit une dépolymérisation importante qui ne permet pas d'obtenir une mesure de son degré de polymérisation dans le résidu.

L'obtention de la fraction holocellulose d'un résidu par une méthode standard pourrait nous donner une cellulose moins dépolymérisée mais la présence d'hémicelluloses fausserait le résultat.

Nous pensons que le seul moyen d'obtenir de l'information sur le degré de polymérisation de la cellulose dans un résidu serait de la dériver (ex.: nitration) sans la dépolymériser et par la suite de faire les mesures viscosimétriques ou l'analyse par chromatographie d'exclusion (voir section 4.2.3).

3.4.2 Détermination de l'indice de cristallinité de la cellulose (annexe 1, #R-7)

La méthode par diffraction des rayons-X a beaucoup été employée par G. Chauvette pendant ses études de Ph.D. Il s'agit de la méthode conventionnelle développée par Segal et al (1). Plusieurs groupes mettent en doute le fait qu'il s'agit d'une mesure du % de cristallinité et préfèrent parler "d'indice d'ordre". G. Chauvette nous a enseigné la technique mais nous ne l'avons pas encore utilisée de façon appréciable.

---

(1) L. Segal et al, Textile Res. J., 29 (1959), 786.

3.4.3 Analyse des macromolécules solubles par chromatographie d'exclusion (annexe 1, #C-1)

Le système de chromatographie d'exclusion haute performance est composé d'une colonne de la compagnie Toyo Soda (TSK-PW-4000) ayant comme support un gel de polyéthers hydroxylés et une exclusion linéaire de 6,000 à 500,000 (r: .995) pour des dextrans.

Nous avons choisi un ensemble de dextrans comme standard. Etant donné leur nature polysaccharidique, nous pouvions supposer que leur comportement en chromatographie d'exclusion ressemblerait à celui des espèces chimiques présentes dans les filtrats de cellulose. Le défaut majeur de ces polymères est cependant leur polydispersité élevée.

La standardisation fut effectuée à l'aide de dextrans de poids moléculaires moyens différents variant de 9,000 à 2,000,000 ainsi qu'avec des oligosaccharides (DP 2 à 4) et du glucose. Le volume total est déterminé avec D_2O.

Nous projetons de raffiner cette standardisation avec deux autres séries de polymères solubles: les oxydes de polyéthylène et les pullulans qui ont des polydispersités plus faibles. Plusieurs types d'échantillons ont été analysés par cette méthode:

- Analyse des filtrats d'hydrolyse de la cellulose.
- Analyse des filtrats d'hydrolyse d'amidon.
- Analyse des filtrats de traitement thermomécanique des dextrans et quantification des dextrans.

Nous avons reçu une autre colonne TSK-PW-3000 ayant une exclusion de 1,000 à 150,000 qui nous permettra de pouvoir mieux étudier les macromolécules plus petites.

Effets ioniques en SEC

Nous avons noté, en cours d'études, des pics sur les chromatogrammes ayant l'apparence de molécules à poids moléculaires élevés. Ceci était fréquent dans les hydrolysats de celluloses. Ces pics étaient aussi présents sur les chromatogrammes de la colonne préparative fabriquée avec un gel équivalent à celui de la TSK-PW.

Une investigation a démontré que l'un de ces pics était causé par le sulfate de sodium présent dans les échantillons. L'acide sulfurique de ces échantillons étant neutralisé par l'hydroxyde de sodium. Nous avons donc analysé une série d'ions à poids moléculaire faible (inférieure au glucose) et vous trouverez dans le tableau 3.1, le nombre de pics généré par ces ions, leur volume d'élution, leur poids moléculaire "apparent" ainsi que leur intensité relative (une intensité de 1 est accordé au plus petit) lorsque l'indice de réfraction est utilisé comme mode de détection. Le volume mort de la colonne est de 11.6 ml et le volume total de 23.4 ml.

Deux phénomènes peuvent expliquer ces pics qui n'ont rien à voir avec le poids moléculaire de l'espèce ionique en question (1, 2, 3).

1) Exclusion ionique:
   Si la surface du gel possède une charge nette, les ions de charges similaires seront exclus des pores par répulsion électrostatique. Il serait cependant surprenant que cette explication réponde à nos observations puisqu'il s'agit d'un gel neutre.

2) Inclusion ionique:
   L'inclusion ionique est attribué aux effets d'équilibre membrannaire de Donnnan. Les petits pores du gel ont un comportement similaire à la phase externe d'une membrane à dialyse. Les ions en solution auront tendance à être présent en plus forte concen-

---

(1) Barth, H.G. J. Chrom. Sic., 18 (1980), 409.
(2) J.J. Levy, P.L. Dubin, Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev., 21 (1982), 59.
(3) P.L. Dubin, J.J. Levy, J. Chrom., 235 (1982), 377.

Tableau 3.1 Analyse de différentes espèces ioniques par exclusion moléculaire

Ion	Pic	V_e	PM APP	$I_{relatif}$	Concentration mg/ml
Na_2SO_4	1	17.3	20,000	1	2
	2	21	< 500	1.43	
K_2SO_4	1	17.1	25,000	1	2
	2	20.8	< 500	1.32	
CH_3COOH	1	18.2	12,500	1	1
	2	21.0	< 500	4.95	
CH_3COONa	1	18.2	12,500	1	2
	2	20.9	< 500	5.47	
NaCl	1	18.4	10,500	(négatif)	2
	2	20.8	< 500	-	
NaF	1	18.4	10,500	(négatif)	2
	2	21.1	< 500	-	
$NaNO_3$	1	18.8	7,400	(négatif)	2
	2	21.2	< 500	-	
$Ba(NO_3)_2$	1	18.8	7,400	(négatif)	2
	2	21.0	< 500	-	
Ac. Levulinique	1	17.9	15,000	1	1
	2	20.6	< 1,000	0.37	
Ac. Formique	1	18.0	13,000	(négatif)	1
	2	20.7	< 500	-	

V_e = volume d'élution en ml

PM_{APP} = poids moléculaire apparent en équivalent dextran

$$I_{relatif} = \frac{\text{surface du pic}}{\text{surface du plus petit pic}}$$

Note: dans plusieurs cas (négatif) le pic consistait en une déviation négative de la ligne de base du signal suggérant un appauvrissement de l'éluant en ions

tration dans cette phase que dans la phase mobile. Dans notre cas, il s'agirait des ions Na^+ et N_3^- (azide de sodium) qui sont ajoutés à l'éluant. L'ion sulfate qui est beaucoup plus volumineux, est exclu en partie de ces pores ce qui a pour effet de la fractionner en deux portions dans des proportions constantes.

Plusieurs possibilités s'offrent à nous pour solutionner le problème:

1- Augmenter la force ionique de l'éluant chromatographique.
2- Opter pour des méthodes de neutralisation des échantillons qui précipitent les ions. Ex.: $Ba(OH)_2$, $CaCO_3$.
3- Corriger les chromatogrammes.

La solution 1 est à rejeter car ceci est nocif pour les pompes. La solution 3 est indésirable. La solution 2 sera mise à l'épreuve prochainement.

De plus, Hélène Bergeron a mis au point un système préparatif à partir d'un gel équivalent aux colonnes HPLC (Fractogel 50S) qui permet d'obtenir des fractions pures des macromolécules.

Nous avons aussi une colonne préparative de Biogel (P-6) ayant une exclusion de 200 à 6,000. L'application envisagée est la purification des oligomères solubles de la cellulose hydrolysée.

3.4.4 Ultrafiltration (annexe 1, #C-2)

Nous avons acquis une cellule d'ultrafiltration (modèle UHP-43, Microfiltration Systems) d'une capacité de 150 ml avec un assortiment de membranes de polysulfones ayant des barrières (cut-off) de poids moléculaires (dextrans) de 500, 1,000 et 10,000.

Nous avons constaté que les membranes de 10,000 sont très performantes et peuvent être utilisées pour concentrer des macromolécules de poids moléculaires supérieur à 10,000. La réponse des membranes de 500 et 1,000 est beaucoup moins satisfaisante et il faut exprimer leurs effets sur des solutions en terme de coefficient de perméabilité.

Nous avons, de plus, fait l'essai du système d'ultrafiltration Minitan de Millipore qui permet un fonctionnement en continu. Ce système fonctionne très bien mais les seules membranes disponibles ont des barrières supérieures à 10,000. L'applicabilité à court terme de ce système n'est pas encore démontrée.

3.4.5 Sorptométrie (annexe 1, #B-9)

Un stagiaire d'été (F. Côté) a mis au point la méthode permettant de mesurer les surfaces spécifiques par absorption/désorption d'azote de résidu de cellulose.

Il nous a cependant été impossible jusqu'à présent, de développer la méthode de détermination du volume des pores des celluloses tel que proposé par Dollimore (1, 2) pour les silices par cette même méthode.

3.5 Analyse des oligomères

Nous avions développé une méthode quantitative d'analyse des oligomères jusqu'à DP 4 et qualitative jusqu'à DP 6 à l'aide d'une colonne HPLC (Altech 600-CH). Cette colonne est maintenant hors d'usage et son défaut majeur était l'ordre d'élution des sucres qui allait du glucose → polysaccharides donc les macromolécules pouvaient être capturées par la colonne et en abréger la vie utile.

Nous avons maintenant une colonne HPLC BioRad (HPX-42A) dont l'ordre d'élution est polysaccharide → glucose. Ceci devrait éliminer le problème d'adsorption. Nous sommes à l'étape de standardisation.

---

(1) D. Dollimore, G.R. Heal. J. Appl. Chem., 14 (1964), 109.

(2) D. Dollimore, G.R. Heal. J. Col. Interface Sci., 33 (1970), 508.

3.6 Analyse des monomères

3.6.1 Monosaccharides

Nous avons développé deux méthodes pour l'analyse des monosaccharides. Ces deux méthodes se complètent et nous permettent de quantifier et/ou d'idenfier un grand nombre de produits (tableau 3.2).

A) Chromatographie en phase gazeuse (annexe 1, #D-2)
Nous avons amélioré la méthode qui consistait à silyler l'échantillon et l'injecter dans les 30 minutes dans une colonne de type OV-101 de 2 mètres (packed).

Maintenant les échantillons silylés sont stables au-delà de 48 hres et il nous a donc été possible d'automatiser l'injection et le fonctionnement du chromatographe. De plus nous utilisons maintenant une colonne de méthyl silicone de 10 mètres X 530 µm qui augmente la séparation et permet un débit du gaz porteur beaucoup plus faible. Un exemple de séparation est représenté à la Figure 3.2.

B) HPLC (annexe 1, #D-1)
Nous avons optimisé la séparation des monosaccharides sur une colonne BioRad HPX-87P de 7.7 x 300 mm thermostatée à 85°C et utilisant l'eau comme solvant. Cette colonne a le même ordre d'élution que la colonne pour les oligosaccharides (poly → mono). Un exemple de séparation est représenté à la Figure 3.3.

Les deux méthodes ne sont pas utilisées simultanément pour tous les échantillons mais elles permettent de détecter un plus grand nombre de produits et, dans des cas bien précis, de s'assurer d'une double quantification des monosaccharides.

Tableau 3.2

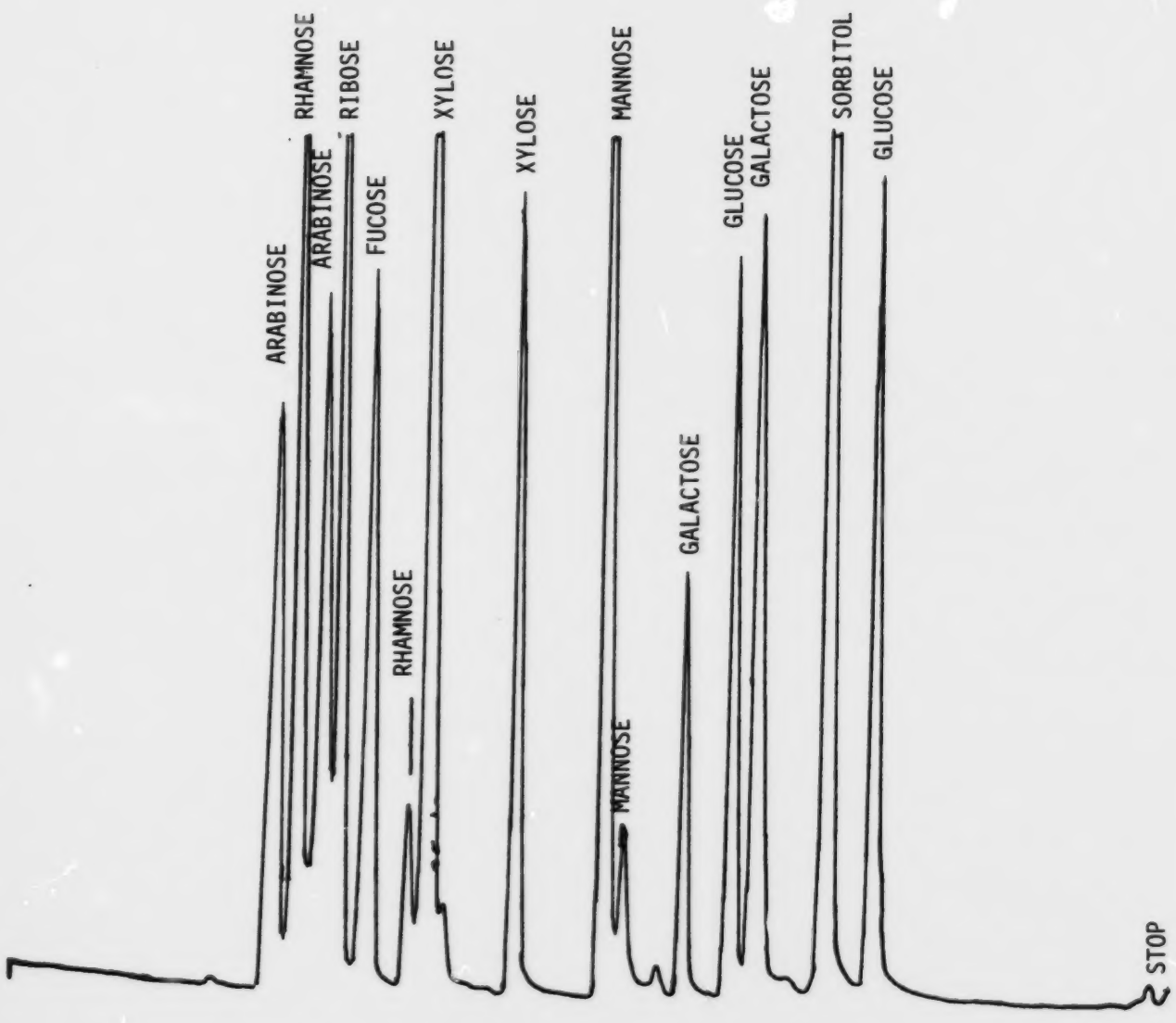
Produits quantifiables et/ou identifiables par chromatographie gazeuse (CPG) et/ou HPLC

Produit	CPG	HPLC
Polysaccharide	-	I
Oligosacharide		
- stachyose	-	I
- raffinose	-	I
- mélizitose	-	I
- mélibiose	-	I
- maltose	-	Q
- sucrose	-	I*
- cellobiose	-	I*
Monosaccharide		
- glucose	Q	Q
- xylose	Q	Q
- mammose	Q	Q
- arabinose	Q	Q
- galactose	Q	Q
- fucose	Q	-
- rhammose	Q	-
- ribose	Q	-
- fructose	I*	I*
Général		
- lévoglucosan	I	Q
- furfural	-	I
- OH-Me-furfural	-	Q
- ac. acétique	I	-
- ac. glucuronique	I	-
- éthylène glycol	-	I
- glycérol	-	I

I: Produits identifiés
I*: Produits qui pourraient être quantifiés
Q: Produits quantifiés

Figure 3.2

MONOSACCHARIDES STANDARDS GC (D-2)



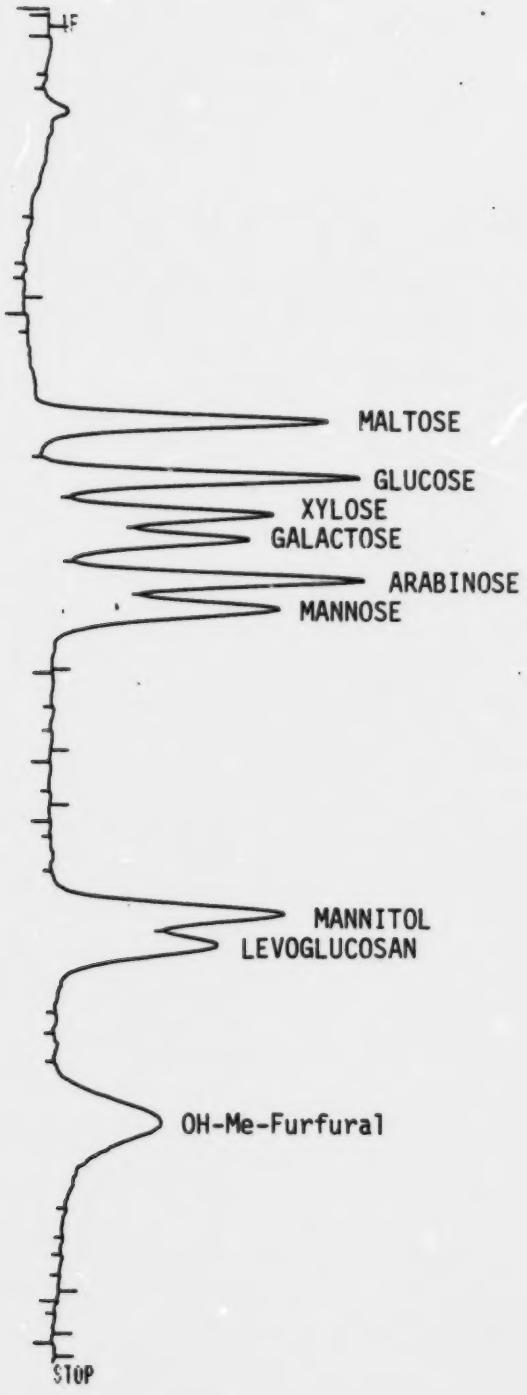


Figure 3.3

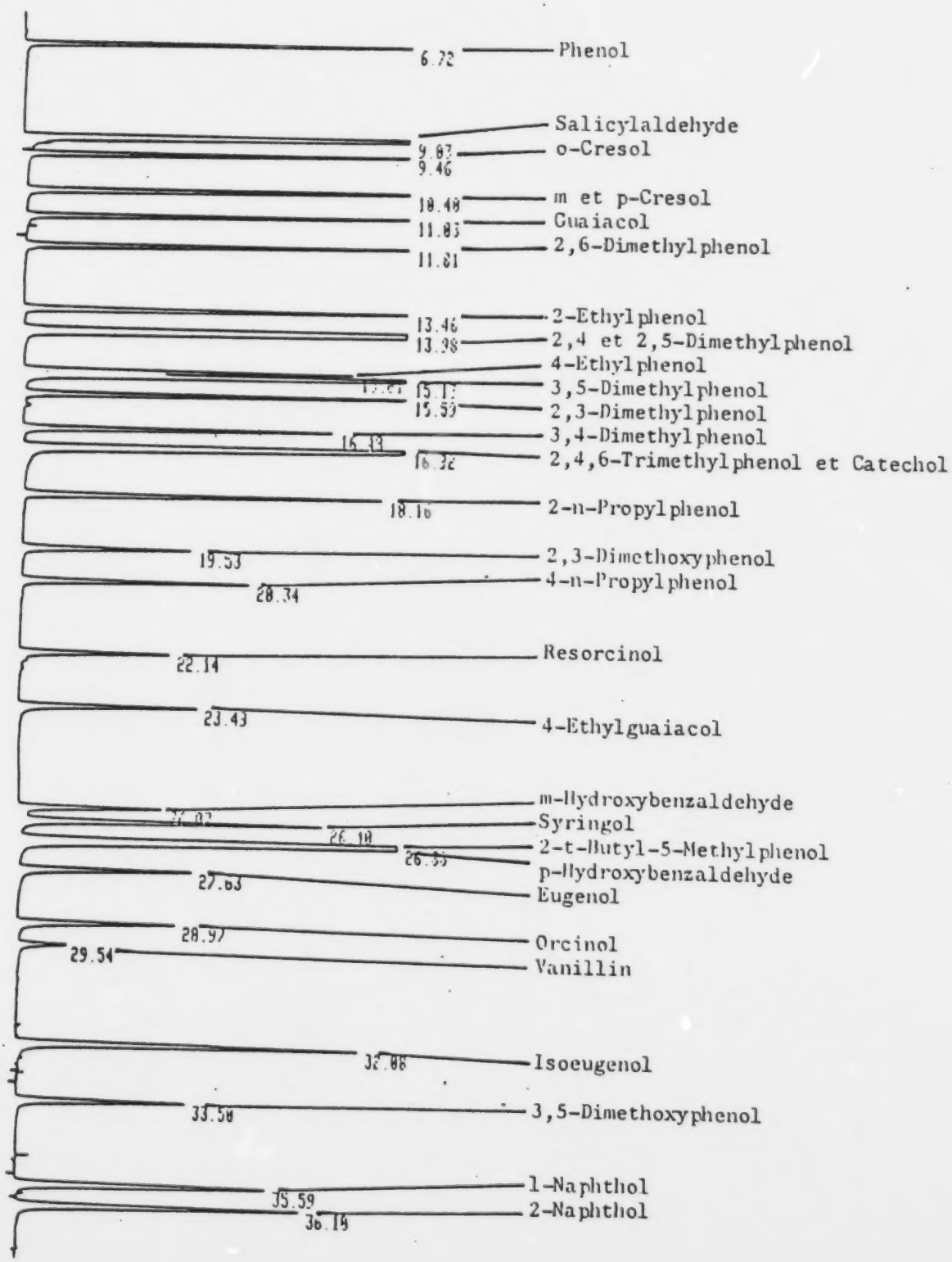
MONOSACCHARIDES STANDARDS HPLC (D-1)

3.6.2 Analyse des monomères aromatiques (annexe 1, #D-3)

L'analyse des aromatiques est effectuée en chromatographie gazeuse sur une colonne capillaire SPB-5 (0.32 mm x 30 m). Nous avons plus d'une centaine de produits identifiés et procédons à leur quantification à mesure que des demandes sont faites en ce sens. Un exemple de séparation est présenté à la figure 3.4.

Figure 3.4

PHENOLS STANDARDS GC (D-3)



SECTION IV

MÉTHODES ANALYTIQUES EN DÉVELOPPEMENT

Cette section regroupe les méthodes qui sont présentement en développement dans le laboratoire ainsi que celles qui le seront à court terme (< 6 mois).

4.1 Méthodes standards

4.1.1 Dosage des pentosans

Il s'agit de la méthode standard (ASTM-D-1787 et TAPPI T223) où l'on hydrolyse les pentosans en pentose qui sont convertis en furfural. Ce dernier est par la suite distillé, collecté puis quantifié. Deux méthodes de quantification sont envisagées (1):

- absorption à 630 nm après réaction avec l'orcinol;
- titration du brome en excès après bromination du furfural.

4.1.2 Dosage des acides uroniques

Les acides uroniques sont des dérivés des sucres sur lesquels le dernier carbone est un carbonyl. Ils sont présents dans les hémicelluloses et ils peuvent représenter jusqu'à 5% du bois initial.

La méthode standard a été développée il y a plusieurs années (2, 3, 4) et ne semble pas avoir été remplacée. Elle consiste en une décarboxylation de l'acide par hydrolyse avec HCl 12% sous reflux. Le CO_2 est ensuite trappé par de l'ascarite puis déterminé gravimétriquement. Le montage expérimental ainsi que la technique sont assez complexes et nous nous proposons, avant d'entreprendre sa mise en route, de vérifier dans la littérature l'existence d'une méthode plus moderne et plus simple.

---

(1) W.D. Moore, D.R. Johnson, Procedures for the chemical analysis of wood and wood products (1967), 67-032.
(2) B.L. Browning, TAPPI, 32 (1949), 119.
(3) Burkhart, B., Baur, L., Link, K. J. Biol. Chem., 104 (1934), 171.
(4) W.D. Moore, D.R. Johnson, Procedures for the chemical analysis of wood and wood products (1967), 67-044.

4.1.3 Dosage des groupements acétyls

Les composés organiques contenant un radical -O-Acétyl (ou -N-acétyl) peuvent être hydrolysés en milieu acide ou alcalin. Les produits volatils sont ensuite distillés et l'acide acétique présent est titré par le NaOH. Les bois peuvent contenir jusqu'à 4.5% de groupement acétyl. Cette méthode standard fut développée par Weisenberger (1). Le montage et la technique sont toutefois délicats et compliqués. Il est aussi possible de quantifier les groupements acétyls d'un échantillon soluble dans l'eau par ^{1}H-RMN tel que proposé par Barnett (2).

4.1.4 Dosage des groupements méthoxyl de la lignine

La méthode de détermination des groupements méthoxyls origine des travaux de Zeisel (3). Les iodures d'alkyls formés après hydrolyse du lien éther par l'acide iodhydrique (HI) sont distillés puis oxydés en iodate puis en iode par le brome. L'iode est par la suite titré au thiosulfate. Il est aussi possible, et c'est ce que nous projetons, de quantifier directement les iodures d'alkyls par chromatographie gazeuse (4) après piégeage des iodures par le toluène. Le décane est utilisé comme standard interne.

4.1.5 Dosage enzymatique du glucose

Le complexe enzymatique glucose oxydase-peroxydase (GOP) permet un dosage très spécifique pour le glucose monomérique (5, 6). Cette méthode colorimétrique a l'avantage d'être simple, peu coûteuse et rapide. Elle serait avantageuse lorsque l'on a un grand nombre d'échantillons qui ne contiennent pas ou dont il n'est pas nécessaire de connaître le contenu des autres sucres monomériques.

---

(1) E. Weisenberger, Makrochem., 33 (1947), 51-69.
(2) D. Barnett, Thèse de 3ième cycle (1984), p. 40-42, Grenoble.
(3) A. Elek in Organic Analysis, Vol. I (1953), Interscience, N.Y., pp. 67-126.
(4) J.L. Puech, Thèse de 3ième cycle (1978), p. 19-21, Toulouse.
(5) L.G. Morin, J. Prox, Clinical Chem., 19 (1973), 959.
(6) J. Okuda, I. Miwa, Methods of biochemical analysis, Vol. 21, pp. 156-158 et 169-172, Wiley, N.Y. (1973).

4.2 Méthodes préparatives

4.2.1 Séparation aromatiques/carbohydrates dans les solutions obtenues par traitement thermomécanique

Nous avons atteint une étape analytique où il devient extrêmement important de séparer les composés aromatiques provenant de la lignine et les sucres provenant des hemicelluloses qui se retrouvent solubilisés lors des traitements thermomécaniques du bois.

Ceci dans le but de:

- connaître leurs proportions relatives en fonction des conditions;
- obtenir une fraction carbohydrate que nous pourrons analyser plus adéquatement que lorsqu'elle est empoisonnée par les aromatiques;
- obtenir une fraction aromatique que nous pourrons commencer à analyser;
- obtenir une fraction aromatique soluble pouvant servir au projet de dégradation bactérienne de la lignine.

Les essais préliminaires d'extractions dans des ampoules se sont avérés infructueux. Les principaux problèmes étaient un faible rendement et des émulsions non-séparables.

Trois méthodes sont présentement en développement dans le laboratoire:

1- Chromatographie HPLC sur C18 des filtrats
En utilisant l'eau comme éluant, il est possible de séparer les sucres de tous les composés moins polaires qui seront retenus par la colonne (1). L'application de cette séparation est l'utilisation de cartouche de C18 servant à traiter un faible volume d'échantillon avant de l'injecter sur des colonnes HPLC (ex.: SEC aq.) où la présence de lignine est indésirable.

---

(1) G. Bonn, R. Pecina, E. Burtscher, O. Bobleter, J. Chrom., 287 (1984), 215-221.

2- Adsorption sur polyvinylpyrrolidone (PVP)

Initialement employée pour l'adsorption des acides humiques des filtrats de tourbe, cette méthode consistant à adsorber les aromatiques sur un gel de polyvinylpyrrolidone et à les désorber subséquemment par traitement basique est aussi mise à l'essai pour les solutions contenant de la lignine.

3- Extraction en continu des solutions aqueuses

Il est possible, si les conditions sont suffisamment douces, de procéder à l'extraction par solvants organiques de solutions aqueuses. Pour cela, il faut un système d'extraction en continu pour solvants moins denses que l'eau. Le système permet un échange lent (goutte à goutte) où le solvant est constamment recyclé.

Nous travaillons avec deux solvants: le diéthyl éther et l'acétate d'éthyl selon la technique suggérée respectivement par Barnett (1) et Mackie et al (2).

4.2.2 Elimination du sulfate de sodium des échantillons d'hydrolyses

Lorsque la neutralisation des solutions d'hydrolyses est effectuée par le NaOH au plan pilote, le sulfate de sodium ainsi formé devient une source de problème en analytique. Plusieurs moyens furent essayés pour l'enlever:

- précipitation avec $Ba(OH)_2$:	pH devient alcalin
- précipitation avec $Ba(OAc)_2$:	acétate est indésirable
- échangeuse d'anions (forme OH^-):	pH devient alcalin adsorption des sucres
- échangeuse d'anions (forme Cl^-):	le NaCl est indésirable
- précipitation avec $BaCO_3$ ou $CaCO_3$:	satisfaisant théoriquement - à essayer

(1) D. Barnett, Thèse de 3ième cycle, (1984), p. 33, Grenoble.

(2) T.A. Clark, K.L. Mackie, J. Chem. Tech. Biotechnol., 34B (1984), 101-110.

4.2.3 Modification des résidus cellulosiques

Dans le but d'analyser plus adéquatement les résidus de cellulose obtenus après les traitements thermomécanique, hydrolytique ou solvolytique, il est nécessaire de modifier la cellulose afin de la rendre soluble dans des solvants compatibles avec la chromatographie d'exclusion en milieu organique. La nitration de la cellulose sera mise à l'essai prochainement. Les nitrates de cellulose sont solubles dans des solvants communs comme l'acétone. Advenant des résultats infructueux, l'acétylation ou la formation de xanthate ou de tricarbanilate seront envisagés.

4.3 Méthodes thermogravimétriques

4.3.1 TGA/DTA des tourbes

Nous sommes à compléter une étude sur le comportement thermique de tourbes traitées thermomécaniquement avec ou sans acide. Certaines tendances semblent se démarquer en fonction du traitement mais de plus, le comportement thermique d'un échantillon en fonction de la vitesse de chauffe (de 1°C/min à 10°C/min) indique une variabilité qu'il serait possible d'appliquer aux calculs des énergies d'activations.

4.3.2 DSC de celluloses

Nous avons débuté l'étude des celluloses traitées par hydrolyse ou solvolyse par calorimétrie différentielle à balayage.

Après une première étape consistant à déterminer les paramètres expérimentaux tels que le poids de l'échantillon, la vitesse de balayage, le débit des gaz, nous avons étudié le comportement des résidus de celluloses hydrolysées et cette méthode semble prometteuse pour la caractérisation de l'état du résidu. Nous pensons que cette méthode complétera les autres mesures telles que l'indice de cristallinité et le degré de polymérisation moyen.

Une autre étude débutera bientôt sur la plage des faibles températures (0°C-200°C) afin d'étudier les phénomènes de désorption d'eau ou de solvant ainsi que la détermination des températures de transitions vitreuses.

A moyen terme, ces travaux pourront être appliqués à l'étude des hémicelluloses et possiblement de la lignine.

4.4 Analyses des macromolécules solubles

4.4.1 Chromatographie d'exclusion en milieu organique

Nous sommes à l'étape de développement de cette méthode à partir de deux colonnes ayant des volumes de pores de 50 Å et 500 Å. Ces volumes correspondent respectivement à des plages de séparation de 100 à 1,000 et 500 à 20,000 en poids moléculaire de polystyrènes standards. L'éluant de départ est le tétrahydrofurane mais d'autres solvants peuvent être utilisés.

Après la période de standardisation, nous prévoyons 3 séries d'études:

1° Mesure des polydispersités des lignines obtenues par différents traitements en vue de leur dépolymérisation.
2° Mesure des polydispersités des dérivés de résidus de celluloses hydrolytiques ou solvolytiques.
3° Mesure des polydispersités des acides humiques de la tourbe après traitements en vue de leur dépolymérisation.

Note: Il est prématuré de parler de détermination de poids moléculaire bien que ce soit le but ultime de ces études.

4.4.2 Spectrophotométrie UV-VIS

Nous avons débuté des travaux dans le but de quantifier la lignine soluble dans l'eau par spectrophotométrie. Des techniques de base existent à l'heure actuelle mais elles ne semblent pas suffisamment précises pour

devenir une méthode de contrôle permettant de suivre la dégradation enzymatique de la lignine. Les résultats obtenus jusqu'à date sont peu concluants mais méritent que l'on poursuive le travail.

4.5 Spectroscopie infra-rouge

L'arrivée imminente d'un spectromètre infra-rouge avec transformée de Fourier (FTIR) dans le laboratoire nous permettra de franchir une étape importante dans la caractérisation des groupements fonctionnels et dans la caractérisation des changements structuraux et chimiques pour les macromolécules complexes.

Il serait prématuré de présenter ici les projets en devenir puisqu'une période d'apprentissage doit les précéder mais il est évident que chaque intervenant au laboratoire analytique a plusieurs idées en tête.

SECTION V

PROJETS DE RECHERCHE OÙ LE LABORATOIRE ANALYTIQUE EST DIRECTEMENT IMPLIQUÉ

5.1 Introduction

Il va sans dire que le laboratoire analytique est impliqué dans tous les projets de recherche où des échantillons doivent être analysés. Cette section veut cependant mettre en évidence les projets de recherche où l'implication directe du laboratoire permet, en plus d'apporter des réponses aux problèmes de procédés, d'apporter une contribution analytique à la recherche sur la biomasse.

5.2 Etude structurale et chimique de la cellulose

A mesure que nous accumulions des données sur les fractions solubles et résiduelles obtenues par différents traitements de la cellulose, nous avons entrevu la possibilité d'ajouter notre contribution à l'état des connaissances sur la structure et la réactivité de la cellulose.

5.2.1 Hydrolyse acide de la cellulose

Lorsque la cellulose est hydrolysée selon les procédés développés ici, c'est-à-dire en milieu acide dilué (< 1%) avec contrôle de la température et de la force de cisaillement, nous avons fait les constatations suivantes:

a) Compositions de la fraction soluble
Nous avons démontré qu'un pourcentage important d'oligomères solubles était présent et pouvait être hydrolysé subséquemment en glucose (figure 5.1). Ceci ne correspond pas aux théories existantes pour l'hydrolyse en milieu dilué mais nous proposons que la formation d'oligomères est une étape dans la cinétique de l'hydrolyse de la cellulose. Les travaux se poursuivent quant à l'identification et la quantification de ces oligomères.

Nous sommes à étudier la présence d'autres produits solubles tel le lévoglucosan et un certain nombre d'inconnus.

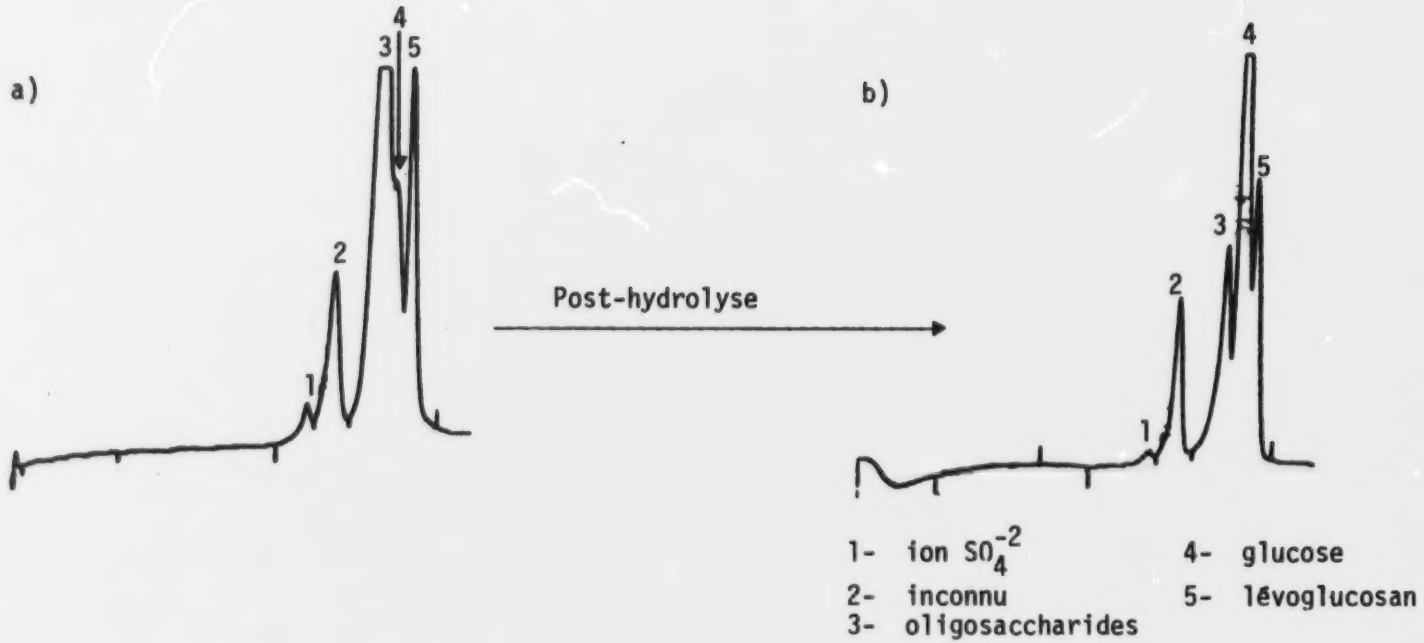


Figure 5.1 Analyse par exclusion moléculaire d'hydrolysats de cellulose
a) Hydrolysat à la sortie du réacteur (T: 214°C, H_2SO_4 0.4%)
b) Post-hydrolyse de l'échantillon (120°C, H_2SO_4 0.8N)

b) Composition du résidu

Nous avons démontré que le résidu subit une dépolymérisation selon une équation linéaire avec la variable température et que le niveau de stabilisation (level-off) du mécanisme hydrolytique, proposé par plusieurs groupes, n'est pas respecté dans ce cas.

Nous avons démontré que le résidu perd son caractère cellulosique en fonction de la température à laquelle l'hydrolyse est effectuée selon les thermogrammes d'ATG et de DSC. Il ne s'agit pas cependant d'un effet thermique uniquement puisqu'en absence d'acide ces modifications ne se produisent pas même à des températures élevées (245°C). Les figures 5.2 et 5.3 illustrent le changement de comportement en DSC des résidus d'hydrolyse de cellulose.

5.2.2 Traitement solvolytique de la cellulose

L'expérimentation de la solvolyse par l'éthylène glycol de la cellulose en est à ses débuts et, jusqu'à aujourd'hui, aucune analyse n'a été effectuée sur la fraction soluble dans l'éthylène glycol.

L'étude des résidus nous a cependant permis de constater:

- que la cellulose subit une dépolymérisation intensive en fonction de la température de traitement (figure 5.4);
- que la cellulose, même après des traitements à des températures excédant 340°C, conserve le même comportement thermique par ATG.

Ceci semble suggérer un rôle de protection du solvant qu'il faudra expliquer et ouvre la porte à l'étude chimique et physique de celluloses fortement dépolymérisées (DP < 100) mais très peu ou pas dégradées.

5.2.3 Futur

Ces résultats sont très prometteurs et l'acquisition de données par infrarouge, GPC, rayons-X et DSC compléteront l'image de ces résidus.

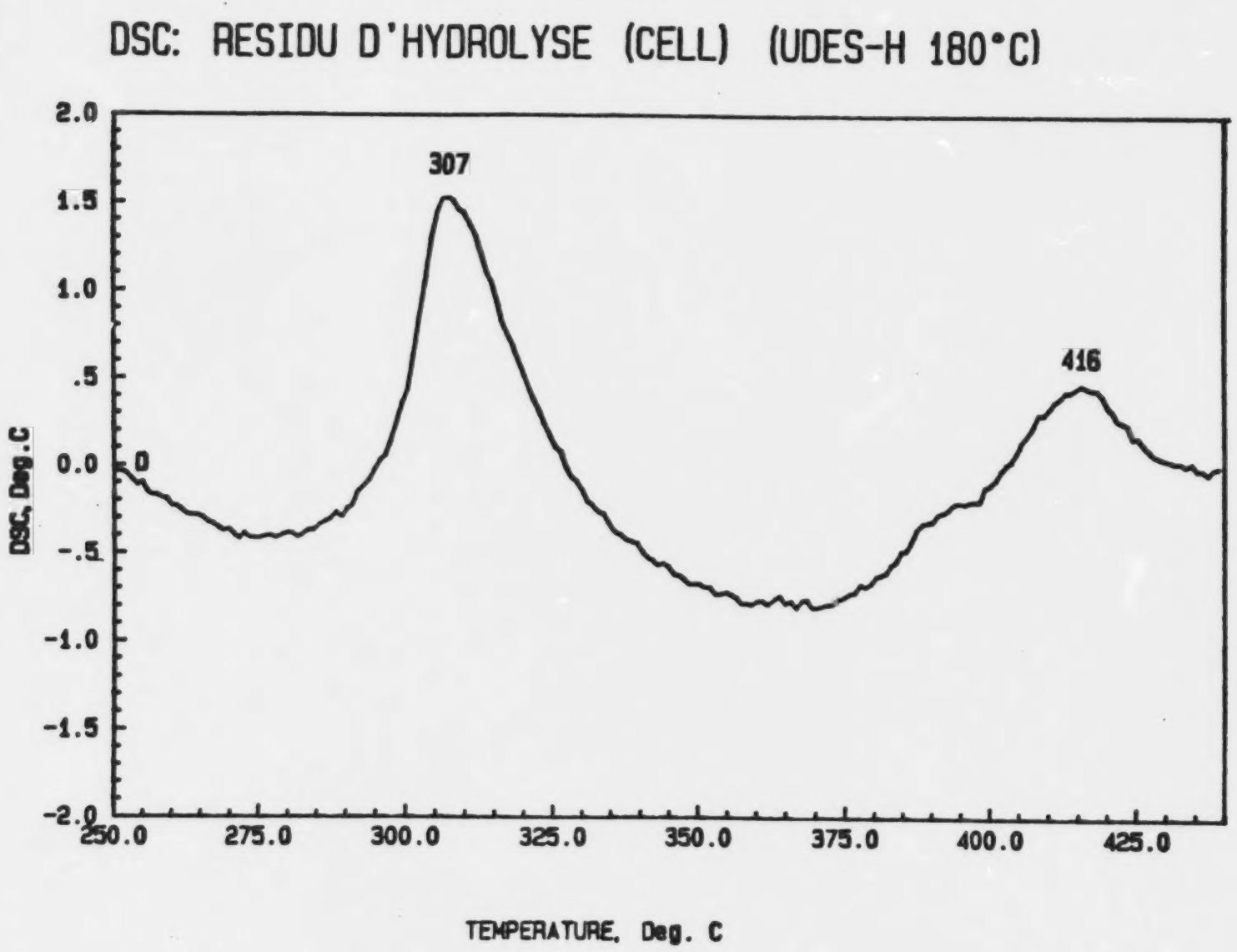


Figure 5.2 DSC d'un résidu de cellulose hydrolysée à 180°C par le procédé UDES-H (H_2SO_4: 0.5%)

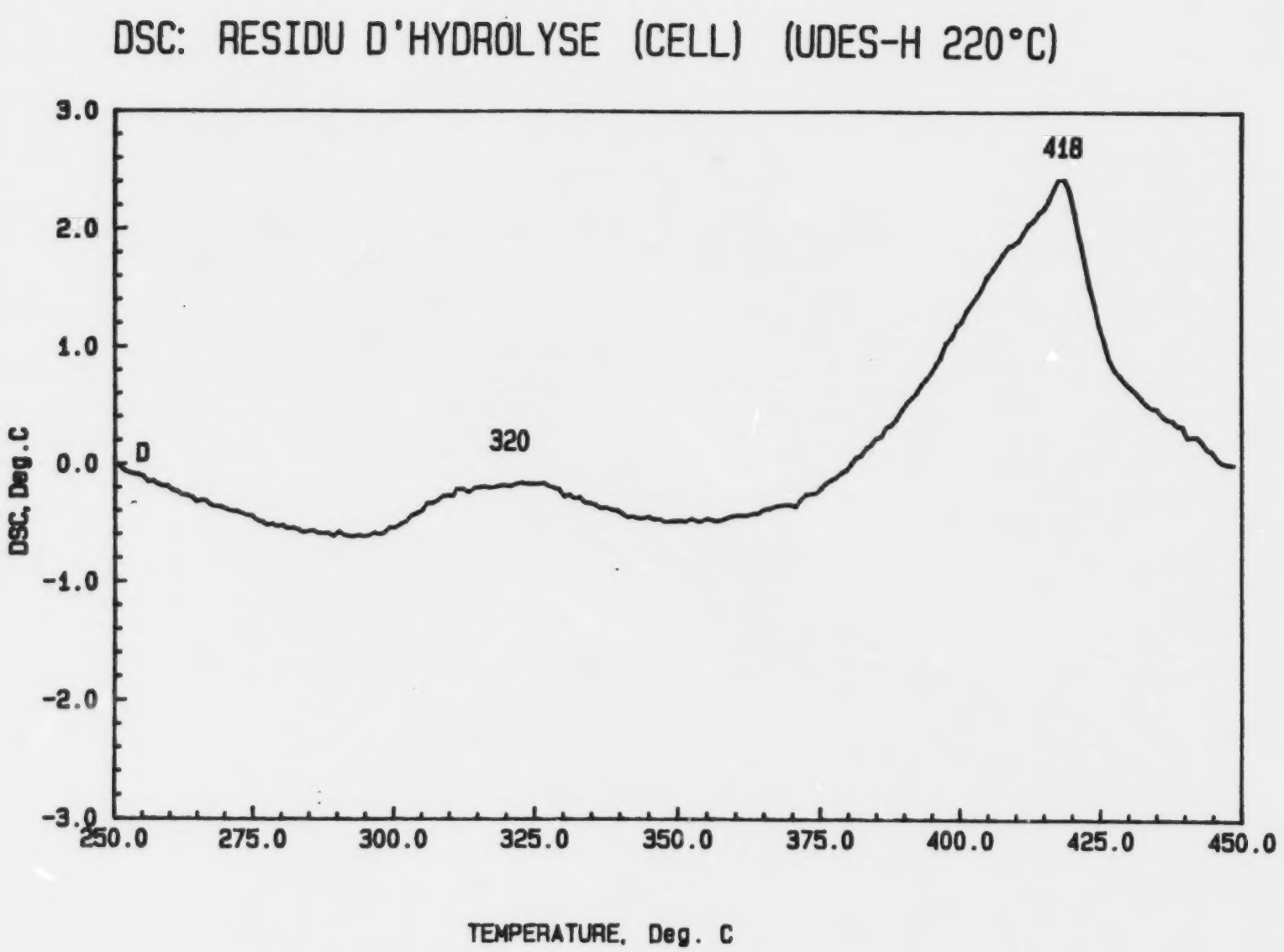


Figure 5.3 DSC d'un résidu de cellulose hydrolysée à 220°C par le procédé UDES-H (H_2SO_4: 0.5%)

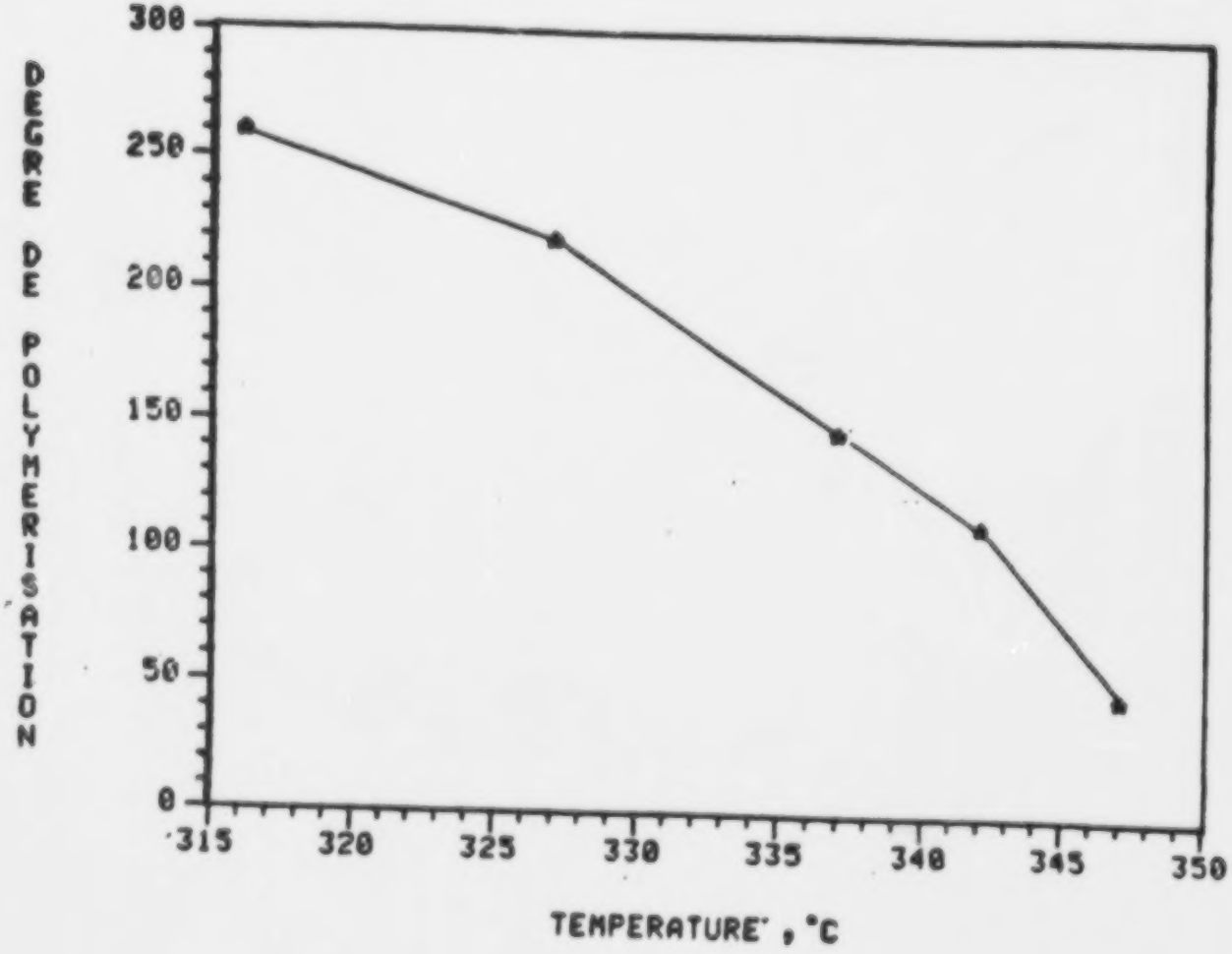


Figure 5.4 Degré de polymérisation du résidu cellulosique en fonction de la température de solvolyse dans l'éthylène glycol (procédé UDES-S)

Les développements à venir en analyse des fractions solubles nous permettront aussi de voir de l'autre côté de la médaille.

L'extension de la solvolyse à d'autres solvants ainsi que l'analyse des échantillons de biomasse traitée par les mêmes procédés permettront de généraliser ces études.

5.3 Hydrolyse de l'amidon

Nous sommes à compléter une étude sur l'hydrolyse acide à faible concentration des amidons en fonction de la température, du cisaillement et de courts temps de résidence (< 20 sec.). L'analyse des échantillons par HPLC des monosaccharides et par SEC des polysaccharides (prochainement des oligosaccharides par HPLC) nous a permis de mettre en évidence tout le patron des amidons solubles en fonction du traitement. Nous pouvons maintenant en dire beaucoup plus sur ce que les gens classaient dans la catégorie "DP3 et plus". Cette méthode nous permet d'obtenir les conditions de procédés pour la fabrication d'une solution d'amidons solubles ayant une distribution de poids moléculaire relativement précise et étroite.

Le tableau 5.1 est un exemple des résultats obtenus en fonction du temps de résidence et de la température pour une concentration d'acide constante. La figure 5.5 illustre les résultats chromatographiques obtenus pour un échantillon.

Il est évident que cette méthode n'a pas d'utilité si le produit final doit être exclusivement le glucose mais lorsque l'on contrôle une dépolymérisation et que l'on peut le visualiser, il est possible de trouver des champs d'intérêts pour ces solutions.

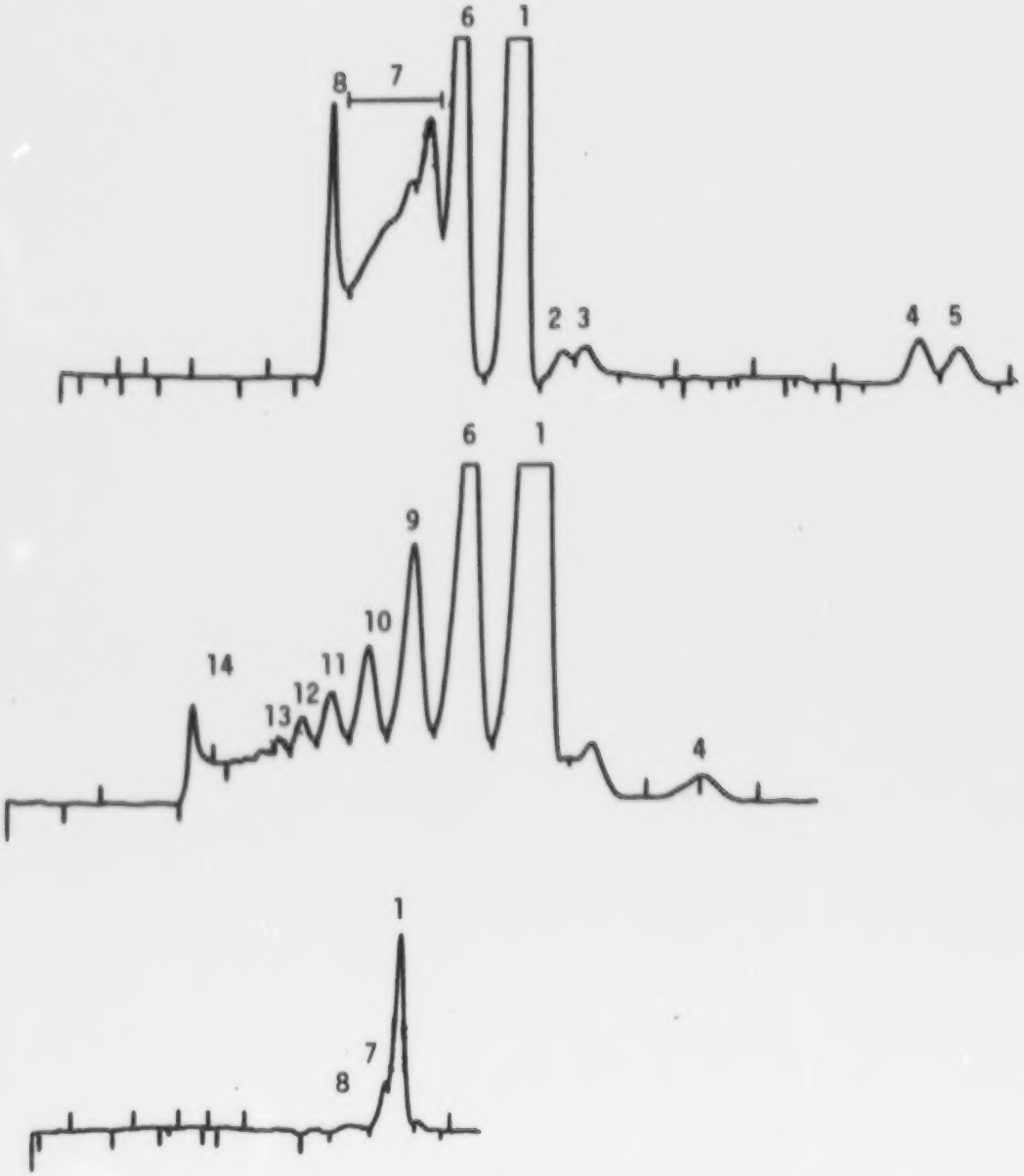
5.4 Traitement thermique à la vapeur avec ou sans explosion

Une série d'expériences réalisée dans le système Stake II (steam- explosion) et dans un système sans explosion (Forintek Corp.) ont été analysées. Le tableau 5.2 montre les résultats d'une série d'expériences avec un bois résineux dans le système Stake II. Les figures 5.6 et 5.7 repré-

Tableau 5.1 Analyse des hydrolysats d'amidons (H_2SO_4 0.3%)
(τ résid.: 2 sec)

	Temperature (°C)				
	200	210	220	230	250
Résidu (g/100 ml)	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3
Solides dissous (g/100 ml)	30.8	31.5	30.2	29.7	24.5
Conversion (%)	97.8	98.1	98.2	98.8	98.7
Glucose (% sol. dissous)	17.2	42.2	64.6	84.1	86
Monosaccharide (")	19.2	46.9	73.0	95.5	103
Maltose (")	9.3	19.3	15.6	3.8	0.6
DP 3 (")	21.3	17.1	8.6	0.4	-
4 (")	13.6	8.6	2.3	0.1	-
5 (")	10.3	4.5	0.3	-	-
6 (")	6.4	2.2	-	-	-
7 (")	2.0	0.5	-	-	-
8 et + (")	20.6	2.5	0.4	-	-
DP 3 et + (")	74.2	35.4	11.6	0.5	-
Levoglucosan (")	-	1.7	3.4	5.7	7.9
OH-Me-Furfural (")	-	-	-	0.6	1.4

Note: % Monosacc + % Maltose + % DP_3 et + = 100



1 Glucose
2 Galactose
3 Mannose
4 Mannitol (standard interne)
5 Lévoglucosan
6 Maltose (DP2)
7 Oligosaccharides
8 Polysaccharides
9 DP3
10 DP4
11 DP5
12 DP6
13 DP7
14 DP8 et +

Figure 5.5 Analyse d'un hydrolysat d'amidon obtenu par le procédé UDES-H
a) monosaccharide, col. HPX-87P, b) oligosaccharides, col. HPX-42A,
c) exclusion, col. TSk-PW-4000

Tableau 5.2 Analyses des résidus d'un mélange de variétés de pins après traitement dans le système Stake II sous différentes conditions

Conditions	Extraits à[1] l'eau %	Cellulose[2]		Lignine		Hémicelluloses		
		N.Ex.	Ex.	N.Ex.	Ex.	N.Ex.	E.X.	% des hémicelluloses du bois
Bois	14.3	-	50.4	-	28.6	-	21.0	100
198°C	20.0	51.4	58.8	30.2	32.5	18.4	8.7	41.4
208°C	20.3	47.6	54.2	31.4	36.4	21.0	9.3	44.2
217°C	21.4	43.8	55.8	37.1	33.9	19.1	10.3	49.0
224°C	14.0	47.5	56.0	37.9	35.6	14.6	8.4	40.0

1- Les résultats sont exprimés en % par rapport au bois sec

2- N.Ex. = échantillon non-extrait à l'eau, EX = éch. extrait à l'eau

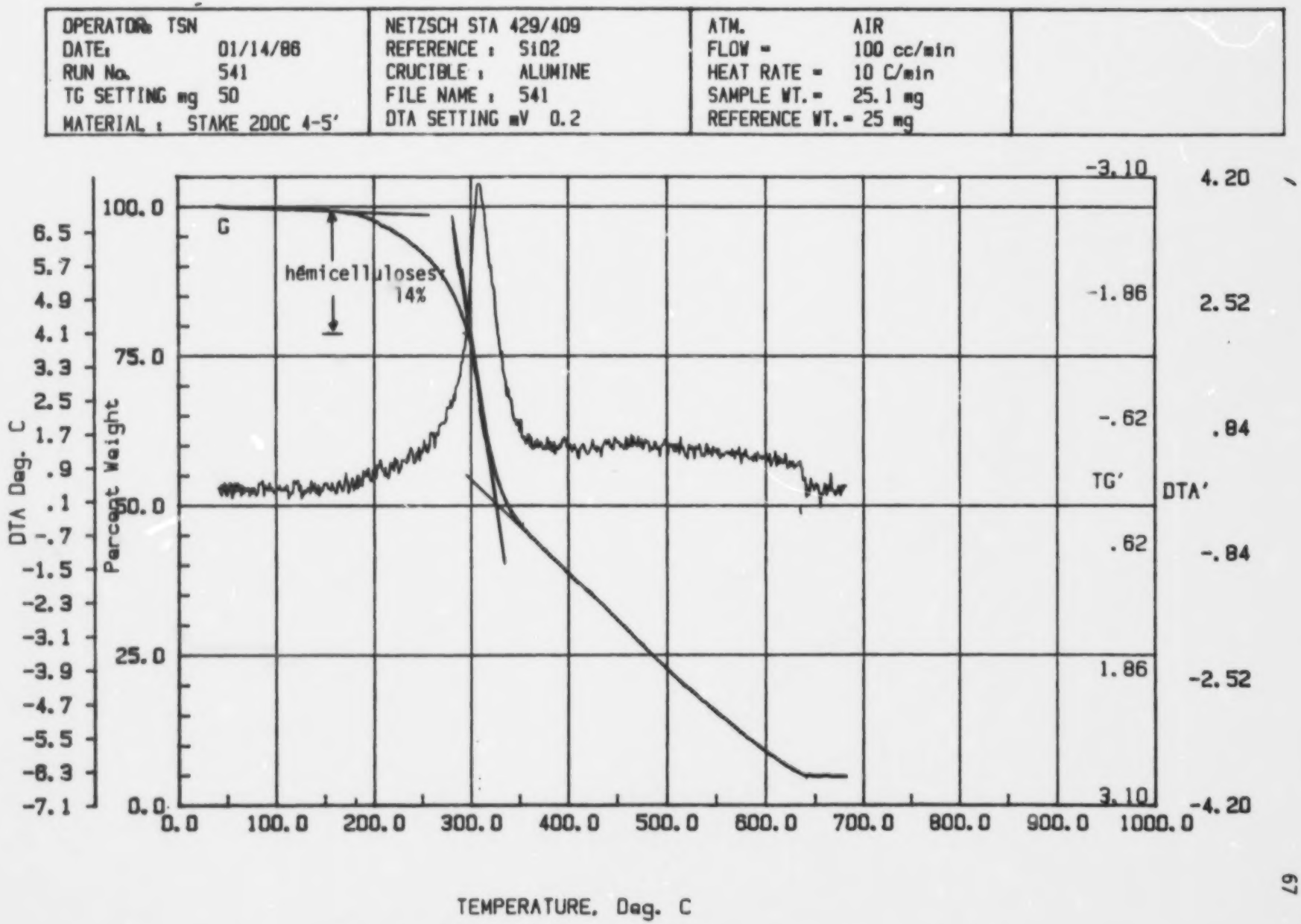


Figure 5.6 ATG du résidu obtenu par le traitement Stake (200°C, 4 minutes)

OPERATOR: TSN DATE: 01/14/86 RUN No. 542 TG SETTING mg 50 MATERIAL : S.(200 4-5')EAU	NETZSCH STA 429/409 REFERENCE : SiO2 CRUCIBLE : ALUMINE FILE NAME : 542 DTA SETTING mV 0.2	ATM. AIR FLOW = 100 cc/min HEAT RATE = 10 C/min SAMPLE WT.= 25.1 mg REFERENCE WT.= 25 mg	

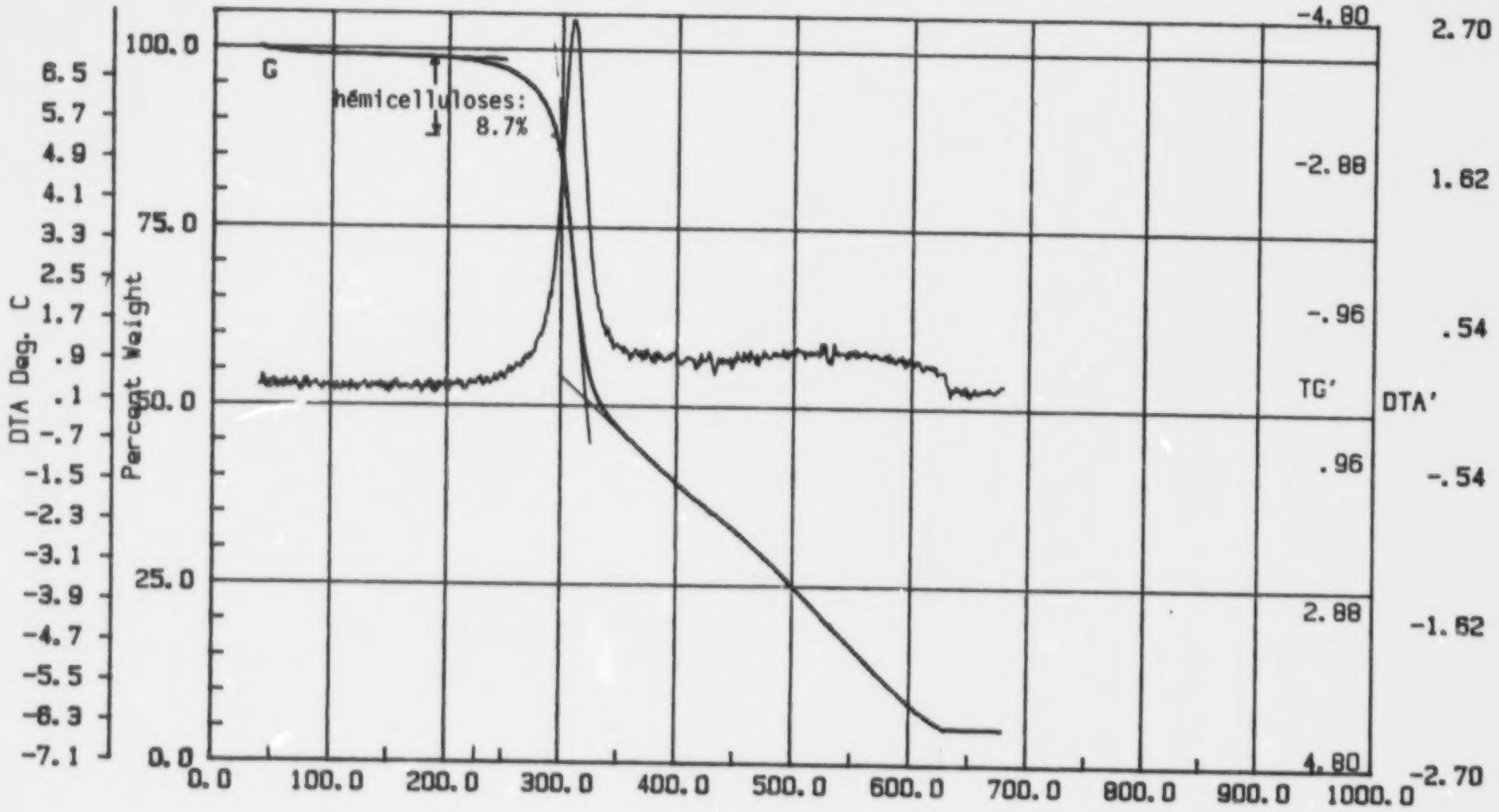


Figure 5.7 ATG du résidu de la figure 4.6 après lavage à l'eau

sentent les thermogrammes d'un de ces résidus avant et après lavage à l'eau. Ces figures mettent en évidence la solubilisation des hémicelluloses.

Nous avons montré qu'une partie importante des hémicelluloses peut être solubilisée par simple lavage à l'eau des résidus. L'analyse thermique (ATG) des résidus avant et après lavage montre que la solubilisation des hémicelluloses se fait selon deux mécanismes. Ce qui est en accord avec la littérature. Mais nous constatons aussi que très peu de lignine semble être solubilisée par ce procédé, ce qui est différent du traitement thermomécanique aqueux.

Nous projetons l'étude de ces fractions solubles d'hémicelluloses dans le but de répondre aux questions suivantes:

- poids moléculaires de ces hémicelluloses;
- variabilité du contenu en monosaccharides en fonction du traitement;
- est-ce que certains polymères hémicellulosiques sont solubilisés préférentiellement?
- contenu en acides uroniques et en groupement acétyl;
- contenu en aromatique (lignine).

5.5 Prétraitement des matières lignocellulosiques

Un nombre important d'analyses furent effectuées sur les échantillons de prétraitement en phase aqueuse de matériels lignocellulosiques (peupliers et tige de maïs). Les résultats ont permis de mettre en évidence les mécanismes de solubilisation des hémicelluloses et de la lignine dans une approche de fracitonnement de la biomasse.

Les tableaux 5.3 et 5.4 (1) sont des exemples des résultats obtenus pour différentes conditions expérimentales.

---

(1) L. Jaulin, D. Groleau, (1986), Prétraitement du matériel lignocellulosique par action thermomécanique en phase aqueuse: caractérisation des produits par voies enzymatique et microbiologique, Rapport technique, MAT-86-041.

Tableau 5.3 Analyse des résidus de prétraitement: conversion et polymères

SÉRIE I - POPULUS DELTOIDES

EXPÉRIENCE	CONDITIONS EXPÉRIMENTALES			CONVERSION	COMPOSITE DE RÉSIDU SEC (ramené à 100 g de bois sec)			
	T °C	P MPa	T (sec)	%	Holocellulose(g)	Cellulose(g)	Hémicellulose(g)	Lignine(g)
Pop. Deltoides extrait eau					79,2	51,4	27,9	20,1
FPD-47	220	37	88	58,01	30,9	27,3	3,6	11,0
FPD-50	220	36	88	51,51	36,9	32,4	4,5	11,1
FPD-46	220	31	88	48,24	39,6	35,5	4,2	12,0
FPD-53	200	31	88	40,12	48,6	39,8	9,0	11,0
FPD-51	180	31	88	31,04	55,9	41,8	14,1	13,0

Tableau 5.4 Analyse des résidus de prétraitement: conversion et monosaccharides

SÉRIE I - POPULUS DELTOIDES

EXPÉRIENCE	CONDITIONS EXPÉRIMENTALES			CONVERSION	COMPOSITION DU RÉSIDU EN SUCRE MONOMERIQUE (% de sucre / à l'holocellulose du résidu)					
	T °C	P MPa	T (sec)	%	ARABINOSE	XYLOSE	MANNOSE	GALACTOSE	GLUCOSE	SUCRE
Pop. Deltoides extrait eau					3,0	14,7	4,2	1,8	38,2	62
FPD-47	220	37	88	58,0	0	4,7	1,6	0,21	97,5	104
FPD-50	220	36	88	51,5	0	5,0	1,7	0,2	88,4	95
FPD-46	220	31	88	48,2	0	6,6	1,9	0,7	102,8	112
FPD-53	200	31	88	40,1	0,3	15,4	1,9	0,4	64,1	82
FPD-51	180	31	88	31,0	0,3	19,7	1,9	0,6	56,1	83

5.6 Prétraitement et hydrolyse de la tourbe

La contribution analytique intéressante pour les expériences sur la tourbe (1) fut la détermination des huit monosaccharides présents après hydrolyse des résidus. La méthode est une séparation en chromatographie gazeuse par une colonne (530 μ x 10 m) de méthyl silicone après silylation des échantillons. Le tableau 5.5 représente une série de résultats pour différents résidus de tourbe de Farhnam.

(1) Léger, S., (1985), Déshydratation de la tourbe par carbonisation à l'état humide, Thèse de M.Sc., Université de Sherbrooke.

Tableau 5.5 Analyses des monosaccharides de différents résidus obtenus par traitement de la tourbe selon le procédé UDES-F

ESSAI #		F20	F21	F22	F23
Masse	(mg)	349,5	356,7	372,4	349,7
Humidité	(%)	4,6	4,3	4,9	4,5
Cendres	(%)	2,7	2,5	2,6	2,6
Masse organique	(mg)	324	333	345	325
Rhamnose	(mg/g)	0,15(0,04)	0,18(0,04)	0,20(0,04)	0,03(0,03)
Arabinose	(mg/g)	0,06(0,03)	<0,0	0,17(0,04)	0,06(0,03)
Ribose	(mg/g)	<0,0	0,21(0,05)	<0,0	<0,0
Fucose	(mg/g)	0,56(0,07)	0,33(0,05)	0,29(0,05)	0,28(0,05)
Xylose	(mg/g)	1,79(0,16)	0,18(0,04)	0,26(0,05)	0,43(0,06)
Mannose	(mg/g)	2,28(0,20)	0,87(0,10)	0,38(0,06)	0,55(0,07)
Galactose	(mg/g)	1,23(0,12)	0,39(0,06)	6,67(0,51)	0,92(0,10)
Glucose	(mg/g)	56,4(4,2)	32,3(2,5)	17,6(1,3)	34,1(2,5)

SECTION VI

ACTIVITÉS COMPLÉMENTAIRES

6.1 Publications, conférences, rapports

6.1.1 Publications

Voici la liste des publications dans lesquelles le laboratoire analytique a joué un rôle relativement important:

1- Bouchard, J., S. Léger, E. Chornet and R.P. Overend. **Quantification of residual polymeric families present in thermo-mechanical and chemically pretreated lignocellulosics via thermal analysis.** Biomass, an intl. journal (accepté pour publication, 9 oct. 1985).

2- Abatzoglou, N., J. Bouchard, E. Chornet and R.P. Overend. **Acid depolymerization of cellulose in aqueous phase: experimental evidence of the significant presence of soluble oligomeric intermediates.** (Soumis pour publication à Can. J. Chem. Eng., Sept. 1985).

3- Chornet, E., P. Koeberle, J. Bouchard, L. Jaulin et R.P. Overend. **Alternatives technologiques visant la valorisation de la biomasse provenant des forêts non-commerciales ainsi que des résidus de la coupe et de la transformation.** (Soumis pour publication à Forêt et Papier en mai 1985).

4- Capek-Ménard, E., B. Preiss, J. Bouchard, E. Chornet, L. Jaulin et R.P. Overend. **Enhancement of saccharide yields from enzymatic hydrolysis of Populus Deltoïdes pretreated via a thermo-mechanical method involving the rapid passage of medium consistency aqueous suspensions through homogenizing valves.** (Soumis pour publication à Biotechnology and bioenergineering, octobre 85).

5- **"Bioconversion of hemicelluloses into Fungal Protein"** D.S. Chahal, M. Ishaque, D. Brouillard, E. Chornet, R.P. Overend, L. Jaulin, J. Bouchard. Soumis pour publication dans "Development in Industrial Microbiology".

6- **Studies on modification of cellulosic residue obtained by hydrolytic or solvolytic process by differential scanning calorimetry.** J. Bouchard, E. Chornet, R.P. Overend (en préparation).

7- **Complete analysis system for starch hydrolysates obtained from a process with short residence time.** J. Bouchard, P. Koeberle, E. Chornet, R.P. Overend (en préparation).

6.1.2 Conférences

1- Bouchard, J., S. Léger, E. Chornet and R.P. Overend. **Quantification of residual polymeric families present in thermo-mechanical and chemically pretreated lignocellulosics via thermal analysis.** Proceeding of the 14th North American Thermal Analysis Society Conference (1985, San Francisco) pp. 553-560.

2- Chornet, E., Koeberle, P., Bouchard, J., Jaulin, L., Overend, R.P. **Le prétraitement des matières lignocellulosiques par voie de fractionnement thermo-mécanique et hydrolyse acide en phase aqueuse.** Colloque "Valorisation énergétique et biomassique des déchets et dérivés de l'agro-alimentaire et de la foresterie", France, 1985.

3- Chahal, D.S., Ishaque, M., Brouillard, D., Chornet, E., Overend, R.P., Jaulin, L. et Bouchard, J. (1985). **"Fungal Protein Production from Hemicellulosic Fraction derived from lignocellulosics treated via the UdeS process"**, 35ième Conf. de la Soc. Can. Microbiologie, Halifax.

4- D.S. Chahal, M. Ishaque, D. Brouillard, E. Chornet, R.P. Overend, L. Jaulin, J. Bouchard. **"Bioconversion of hemicelluloses into Fungal protein"**, Society for Industrial Microbiology annual Meeting Program, août 85, Boston.

5- **Alternatives technologiques visant la valorisation de la biomasse provenant des forêts non-commerciales ainsi que des résidus de la coupe et de la transformation.** E. Chornet, P. Koeberle, J. Bouchard, L. Jaulin, R.P. Overend. Article présenté à la Conf. Technol. Estivale, ACPPP, juin 6-7, Pointe au Pic (1985).

6- BIOFOR, Québec, mars 85.

7- 6th Annual Advances in Analytical Instrumentation and Techniques Conference, Toronto, octobre 84.

8- Hewlett-Packard Analytical Seminar, Montréal, octobre 84.

6.1.3 Rapports

1- Sept rapports d'étape et un rapport annuel pour le contrat: **"Mise au point d'une méthodologie analytique pour la caractérisation des produits issus de la liquéfaction de la biomasse et de la tourbe"**, contrat #OST 83-00357.

2- Rapport interne pour M. R.P. Overend et M. E. Chornet: **"Etude par chromatographie liquide d'exclusion moléculaire d'hydrolysats de celluloses obtenues par traitement dans les réacteurs d'hydrolyse"**, décembre 84.

3- Rapport sur **"The analytical methods used during fermentation"**, de la compagnie St. Lawrence Technologies Limited, september 84.

6.2 Bibliographie analytique

Nous avons tenté de mettre à jour une bibliographie analytique dont les principaux sujets sont:

- Biomasse: général, analyse, structure, chimie
- Cellulose, lignine, hemicelluloses: analyse, structure, chimie
- Sucres, aromatiques, acides: analyse, chimie

- Propriétés et caractéristiques des polymères
- Analyse thermique (TGA, DTA, DSC): théorie, analyse
- Chromatographie gazeuse: théorie, analyse
- HPLC: théorie, analyse
- Chromatographie d'exclusion: théorie, analyse
- FTIR: théorie, analyse

Nous avons, de plus, recueilli des données sur les bibliographies des autres membres de l'équipe (voir tableau 6.1). Devant l'importance de cette bibliographie générale, nous avons proposé via un rapport (Etat de la bibliographie du groupe de E. Chornet, février 86) l'établissement d'une bibliographie informatisée accessible à tous les membres du groupe. Il existe une série de logiciels sur le marché qui serait directement applicable à cette fonction.

Les avantages d'un système informatisé sont les suivantes:

- Accélération des recherches bibliographiques à l'intérieur du groupe.
- Mise en commun de la bibliographie.
- Elimination de la duplication.

Tableau 6.1 Sommation de la bibliographie du groupe Chornet-Overend (12-85)

	N.A.	J.B.	F.C.	L.J.	S.L.	H.S.	C.V.	TOTAL
ARTICLES	105	625	168	600	953	200	159	2810
LIVRES	8	28	-	4	38	15	-	93
RAPPORTS	11	15	-	78	20	80	-	214
THÈSES	4	4	-	10	10	5	-	33
COMPTE-RENDU	25	7	-	5	10	10	-	57
BREVETS	7	-	-	50	-	-	-	57
TOTAL	160	682	168	747	1031	310	159	3267

Conclusion

"Le laboratoire analytique poursuit son expansion méthodologique. Les résultats obtenus à date permettent d'affirmer que la poursuite des approches fractionnées au niveau engineering est bien fondée et donne lieu à des produits primaires identifiables. Des décisions quant aux modifications des procédés peuvent être faites sur une base claire et précise quant aux produits obtenus".

Ces mêmes renseignements nous ont permis, de plus, de mettre en évidence des propriétés, des mécanismes ou des comportements de la biomasse qui orientent le laboratoire vers des travaux de recherche menant à la publication de résultats sur la structure, la chimie et les propriétés des différents composés de la biomasse.

Les méthodes analytiques qui sont présentement en développement nous permettront de mieux identifier les mécanismes impliqués dans les procédés et de compléter l'arsenal analytique nécessaire aux recherches plus fondamentales.

Je voudrais, pour terminer, exprimer mon opinion sur l'avenir du laboratoire analytique.

Nous constatons que la plupart des groupes de recherche oeuvrant dans les mêmes domaines que nous, semblent depuis quelques années augmenter sensiblement l'emphase sur la partie analytique de leurs travaux. La séparation physique et intellectuelle entre les groupes fondamentalistes et appliqués semble disparaître au profit de groupes de recherche où il y a une forte intégration entre l'usine pilote et le laboratoire analytique très sophistiqué.

Je crois que notre groupe travaille dans cet esprit depuis déjà trois ou quatre ans mais si nous voulons continuer dans ce sens et aspirer à compétitionner avec les groupes reconnus, il faudra s'engager plus fortement au niveau analytique.

Nous avons élaboré, pour l'année en cours, une stratégie visant l'intégration des étudiants gradués de génie chimique au laboratoire analytique. Il est évident que leur contribution permettra une augmentation de la productivité du laboratoire.

Idéalement, il faudrait développer trois autres aspects du laboratoire:

1- Sens auto-critique:
Il est essentiel, si nous voulons atteindre les standards que nous nous sommes fixés, d'apprendre à davantage nous autocritiquer sans détour. Cette démarche peut sembler difficile mais il faudra développer la maturité d'esprit nécessaire.

2- Formation
Nous devrons augmenter l'aspect formation continue des membres de l'équipe, soit par des cours intensifs dans un domaine ou sur une technologie particuliers, soit par des stages de formation dans d'autres laboratoires.

3- Ressources humaines
Il faudrait, dans la mesure du possible, augmenter les ressources humaines du laboratoire analytique:
- stagiaires (de type post-doctoral) dont le rôle serait majoritairement analytique
- étudiants gradués en sciences dont le travail expérimental s'effectuerait en grande partie dans nos laboratoires
- personnel permanent gradué.

Je crois que des efforts allant dans le sens de ces recommandations auront pour effet d'accroître sensiblement la qualité et l'importance de la contribution du laboratoire analytique. Il s'ensuivra une plus grande visibilité de notre groupe au niveau analytique et la respectabilité que notre groupe tout entier acquerra dans les prochaines années, n'en sera que plus importante.

Jean Bouchard, M.Sc.
Mars 1986

Annexe I

Procédures pour l'analyse de la biomasse, de la tourbe et de leurs produits

par

J. Bouchard

Mars 1986

Laboratoire E. Chornet/R.P. Overend

Table des matières

Table des matières
Introduction

Section A: Méthodes générales et préparatives

Méthode #A-1: Détermination de l'humidité d'un échantillon
Méthode #A-2: Détermination des cendres d'un échantillon
Méthode #A-3: Extraction du bois par des solvants
Méthode #A-3a: Extraction à l'alcool-benzène
Méthode #A-3b: Extraction à l'eau
Méthode #A-3c: Préparation de bois libre d'extractibles (non quantitatif)
Méthode #A-4: Hydrolyse des polysaccharides des solides
Méthode #A-5: Post hydrolyse des filtrats de pré-traitements (en rédaction)
Méthode #A-6: Dosage semi-quantitatif du fer en solution
Méthode #A-7: Elimination des cations métalliques dans les hydrolysats
Méthode #A-8: Dosage des métaux dans la biomasse
Méthode #A-9: Détermination du carbone, de l'hydrogène et de l'azote par analyse élémentaire
Méthode #A-10: Dosage de l'eau par Karl-Fisher (en rédaction)

Section B: Analyse des macromolécules des échantillons solides

Méthode #B-1: Détermination des cellulose, hémicellulose et lignine par analyse thermique
Méthode #B-2: Détermination de l'holocellulose du bois
Méthode #B-3: Détermination de α-cellulose du bois
Méthode #B-4: Détermination de la cellulose du bois
Méthode #B-5: Détermination de la lignine insoluble en milieu acide
Méthode #B-6: Détermination du degré de polymérisation moyen de la cellulose par la méthode de la viscosité intrinsèque
Méthode #B-7: Mesure de l'indice de cristallinité de la cellulose par diffraction des rayons-X
Méthode #B-8: Détermination de substances humiques dans la tourbe
Méthode #B-9: Surfaces spécifiques par sorptométrie (en rédaction)

Section C: Analyse des macromolécules en solution

Méthode #C-1: Opération du système HPLC dédié à la chromatographie d'exclusion (SEC) en milieu aqueux
Méthode #C-2: Sépration par ultrafiltration (en rédaction)

Section D: Analyse des oligomères et monomères

Méthode #D-1: Analyse des monosaccharides par HPLC
Méthode #D-2: Dosage des monosaccharides silylés par chromatographie gazeuse capillaire (wide-bore)
Méthode #D-3: Analyse des composés aromatiques par chromatographie capillaire

Introduction

Ce cahier de procédures est réservé à l'usage exclusif des membres du laboratoire E. Chornet/R.P. Overend. Il a été préparé en fonction des besoins, des échantillons et de l'instrumentation spécifiques du groupe.

Les méthodes décrites dans ce cahier ne sont que des méthodes éprouvées par le laboratoire. Les méthodes présentement en développement y seront insérées lorsque nous aurons la certitude qu'elles donnent des résultats de qualité.

Le cahier est divisé en plusieurs sections:

Section A: Méthodes générales et préparatives
Section B: Analyse des macromolécules des échantillons solides
Section C: Analyse des macromolécules en solution
Section D: Analyse des oligomères et monomères

Section A

Méthodes Générales et Préparatives

MÉTHODE #A-1

Détermination de l'humidité d'un échantillon

Principe et applicabilité

Il est important avant de procéder à l'analyse d'un solide de déterminer son % d'humidité. Ce dernier est en effet très variable et dépendant de la nature de l'échantillon. Si on veut pouvoir exprimer nos résultats dans les termes standards: 100 g de bois sec initial, cette détermination s'impose.

Protocole

- Mettre à l'étuve (105°C) une boîte à tare ouverte pendant une heure
- Transférer dans un dessicateur et peser une fois refroidi (M_1)
- Ajouter l'échantillon (≈ 1 g) et peser (M_2)
- Mettre la boîte ouverte à l'étuve au moins deux heures
- Transférer au dessicateur et peser une fois refroidie. Répéter jusqu'à poids constant (M_3)

Calcul

$$\% \text{ humidité} = \frac{M_2 - M_3 \times 100}{M_2 - M_1}$$

$$\% \text{ siccité} = 100 - \% \text{ humidité}$$

MÉTHODE #A-2

Détermination des cendres d'un échantillon

Principe et applicabilité

Le contenu en cendres du bois est défini comme le résidu qui demeure après ignition à 575 ± 25°C pour 3 heures ou plus (1). Cette méthode est une mesure des sels inorganiques dans le bois mais ne correspond pas nécessairement à la quantification de ceux-ci (2). Même si les cendres sont souvent considérées comme une quantité négligeable dans le bois, il est important de vérifier leur concentration dans les résidus car il est possible qu'il y ait un effet concentrateur.

Instrumentation

- Creusets de platine, de silice ou de porcelaine avec couvercles
- Balance analytique
- Four pouvant maintenir une température de 575 ± 25°C

Procédure

- La procédure doit être faite en duplicata
- Peser précisément environ 5 g (2 g minimum) de l'échantillon (M_2) ayant une granulométrie moyenne d'environ 0.5 mm et dont le % d'humidité est connu (% H)
- Placer les creusets vides dans le four (575°C) pour 1 heure. Retirer-les puis abaisser la température du four à 250°C
- Transférer dans un dessicateur. Peser une fois refroidis (M_1)
- Placer les échantillons dans les creusets et les mettre au four partiellement couverts
- Augmenter la température jusqu'à 575°C

---

(1) Tappi Standard T-15.

(2) W.D. Moore, D.B. Johnson, Procedures for the chemical analysis of wood and wood products. U.S. Forest Products Laboratory, 1967, 67-010.

- Retirer les couvercles et laisser 1 heure
- Transférer dans un dessicateur et peser une fois refroidis (M_3)

Calcul

$$\% \text{ cendres} = \frac{M_3 \times 100}{(M_2 - M_1)\ (1 - \% H)}$$

NOTE: L'analyse doit être reprise si la différence entre les deux duplicatas est supérieure à 0.5 mg

MÉTHODE #A-3

Extraction du bois par des solvants

Principe et applicabilité

Les extractibles du bois sont des composés solubles dans des solvants neutres. Ils ne forment cependant pas une partie intrinsèque du bois. Il existe plusieurs méthodes d'extraction du bois. Les principales sont:

- Extraction à l'alcool benzène (1)
  Ce mélange de solvants dissout les cires, une partie des graisses, les résines, les huiles et les tanins
- Extraction à l'eau (2)
  L'eau extrait les sels minéraux, les tanins, de l'amidon, des galactanes, des substances pectiques, des colorants et certains sucres. L'extraction se fait à l'eau froide ou chaude.
- Préparation de bois libre d'extractibles (3) (4)
  Il s'agit d'une méthode qui combine les précédentes pour donner un bois libre d'extractibles.

Il semble que cette dernière méthode est la plus appropriée pour préparer le bois dans un but préparatif et elle est applicable à tous les bois nord-américains. Les méthodes seront décrites dans l'ordre suivant:

Méthode #A-3a: Extraction alcool-benzène

Méthode #A-3b: Extraction à l'eau A) froide
B) chaude

Méthode #A-3c: Préparation de bois libre d'extractibles

---

(1) ASTM Standard D-1107-56 (reappr. 1972).

(2) ASTM Standard D-1110-56 (reappr. 1977).

(3) ASTM Standard D-1105-56 (reappr. 1972).

(4) TAPPI Standard T-12 m-45 (1959).

MÉTHODE #A-3a

Extraction à l'alcool-benzène

Réactifs

- Ether
- Ethanol 95%
- Solution d'alcool-benzène: mélanger 1 volume d'éthanol (95%) et 2 volumes de benzène

Instrumentation

- Système d'extracteur soxhlet
- Tube extracteur

Echantillon

- L'extraction peut se faire sur une masse d'échantillon variant entre 1 et 20 g
  Cela dépend des besoins qui peuvent être:
  - simple détermination
  - bois extrait pour analyses ultérieures
  - préparation de bois extrait

  Il faudra choisir un tube extracteur et un soxhlet de capacité convenable à l'échantillon.
- L'échantillon doit avoir une granulométrie déterminée par passage entre les tanins de 0.40 mm et 0.16 mm et son % d'humidité doit être connu (H_1).

Procédure

- Peser précisément x g d'échantillon (M_1) et déposer dans un tube extracteur

- Introduire le tube dans le corps du soxhlet. Adapter au soxhlet un ballon de capacité convenable (double environ de celle du soxhlet) et un réfrigérant. Faire bouillir en utilisant un chauffe ballon ou une plaque chauffante. Le chauffage doit être réglé de façon à avoir 4 à 6 siphonnages par heure. Continuer l'extraction pendant 7 heures après le premier siphonnage. Eventuellement, continuer si l'extraction n'est pas terminée (solvant dans le soxhlet encore coloré)
- Transférer l'extrait dans un ballon taré (M_2) et évaporer. Sécher à 105°C pour 1 heure et peser (M_3)

Pour les analyses ultérieures

- Transférer l'échantillon de l'extracteur à un creuset de verre fritté
- Essorer sur une trompe à vide
- Rincer avec 100 ml d'éthanol 95% puis 50 ml d'éther
- Laisser sécher à l'air

NOTE: Travailler sous la hotte avec des gants. Récupérer tous les liquides contenant du benzène, ne jamais jeter à l'évier.

Calcul

% d'extrait alcool-benzène (AB) par rapport au bois sec

$$\% \text{ AB} = \frac{(M_3 - M_2) \times 100}{M_1 (1 - H_1)}$$

H_1 = % humidité en décimale
M_1 = masse de l'échantillon
M_2 = masse du ballon
M_3 = masse du ballon + extrait

MÉTHODE #A-3b

Extraction à l'eau

A) Extraction à l'eau froide

Solubiliser les tanins, les gommes, les sucres et les colorants.

Procédure

- Peser précisément l'échantillon (M_1) dont l'humidité a été déterminé (H_1)
- Mettre l'échantillon dans un bécher et ajouter de l'eau distillée dans un rapport de 125 ml/g
- Couvrir et extraire pendant 48 heures à 23 ± 2°C sous agitation
- Filtrer sous vide dans un creuset de verre fritté préalablement pesé (M_2) pendant 1 heure et mettre à 105°C une nuit
- Refroidir et peser jusqu'à poids constant (M_3)

Calculs

$$\% \text{ extractible à l'eau froide} = 100 - \left[\frac{(M_3 - M_2) \times 100}{M_1 (1 - H_1)}\right]$$

B) Extraction à l'eau chaude

Solubilise les mêmes composés que l'eau froide et l'amidon.

Procédure

- Peser précisément l'échantillon (M_1) dont le % d'humidité a été déterminé (H_1)
- Mettre l'échantillon dans un erlenmeyer avec de l'eau distillée à raison de 50 ml/g
- Installer un condenseur et faire bouillir à reflux 7 heures

- Filtrer sur un creuset de verre fritté préalablement pesé (M_2)
- Laver avec de l'eau distillée chaude jusqu'à neutralité du filtrat
- Mettre à 105°C une nuit
- Refroidir et peser jusqu'à poids constant (M_3)

Calculs

% d'extractibles à l'eau chaude: $100 - \left[\frac{(M_3 - M_2) \times 100}{M_1 - (1 - M_1)}\right]$

NOTE: Cette extraction peut être réalisée sur du bois brut ou du bois extrait à l'alcool-benzène.

MÉTHODE #A-3c

Préparation de bois libre d'extractibles (non quantitatif)

Réactifs et instrumentation

- Solution éthanol-benzène 1:2
- Ethanol 95%
- Système d'extraction soxhlet et tube extracteur
- Creuset de verre fritté

Procédure

- Placer l'échantillon (tamisé entre 0.5 et 0.2 mm) dans un tube extracteur
- Extraire au soxhlet pendant 4 heures avec la solution d'éthanol-benzène à un rythme de 4 siphons/heure
- Transférer l'échantillon dans un creuset de verre fritté, filtrer sous vide en lavant à l'éthanol trois fois:

  Lavage à l'éthanol
  - laver avec succion 3 fois
  - couvrir l'échantillon d'éthanol pour dix minutes
  - succionner et laver 3 fois
- Laver à l'eau (pas chaude) de la même façon que le lavage à l'éthanol
- Laisser sécher à l'air

MÉTHODE #A-4

Hydrolyse des polysaccharides des solides (1)

Principe et applicabilité

L'hydrolyse totale du bois ou de la cellulose requiert une hydrolyse primaire par un acide minéral fort qui a pour résultat de former un mélange d'oligosaccharides. Par la suite, une hydrolyse secondaire en milieu acide dilué a pour fonction de compléter la conversion en monosaccharides. Il existe deux méthodes équivalentes. Les deux sont décrites ci-après mais nous recommandons la deuxième, plus simple et plus rapide. Si le contenu en lignine de l'échantillon est désiré, une filtration quantitative doit être faite après l'hydrolyse secondaire (voir méthode #B-5).

NOTE: Porter gants et lunette.

Réactifs

Acide sulfurique 24.1 N (72%)

- ajouter avec précaution 665 ml de H_2SO_4 concentrée (96%, d:1.84) à 300 ml d'eau distillée. Diluer à 1 litre, une fois refroidie
- standardiser la solution avec une solution standard de NaOH. Le méthyl orange peut servir d'indicateur. Ajuster la concentration d'acide à 24.1 N ± 0.1 N par addition d'eau ou de H_2SO_4 concentrée, si nécessaire.

Echantillon

L'échantillon doit avoir une granulométrie inférieure à 0.5 mm et avoir été extrait selon la méthode #A-3c (Préparation d'échantillon libre d'extractibles).

---

(1) W.D. Moore, D.B. Johnson, Procedures for the chemical analysis of wood and wood products, U.S. Forest Products Laboratory, 1967, 67-045, p. 9-20.

Hydrolyse: Méthode 1

Hydrolyse primaire

Peser précisément environ 1 gramme d'échantillon dont le % d'humidité est connu.
Ajouter lentement à l'échantillon 15 ml de H_2SO_4 24.1 N frais (15°C).
Mélanger 1 minute en s'assurant d'écraser les fibres.
Laisser 2 heures à 20°C en agitant fréquemment.

Hydrolyse secondaire

Diluer dans un erlenmeyer ou un ballon de 1 litre avec 560 ml d'eau distillée. La concentration est maintenant de 3% w/w ou 0.62 N. Faire bouillir sous reflux pendant 4 heures. Enlever le ballon et refroidir. (Passer à l'étape de filtration).

Hydrolyse: Méthode 2

Hydrolyse primaire

Peser précisément un échantillon d'environ 0.3 g dont l'humidité est connue dans un vial (M_1, H_1).
Ajouter 1 ml de H_2SO_4 24.1 N par 0.1 g d'échantillon.
Placer le vial dans un bain à 30°C.
Laisser 3 minutes puis agiter vigoureusement.
Laisser à 30°C pendant une heure en agitant fréquemment.

Hydrolyse secondaire

Transférer l'échantillon dans un erlenmeyer de 250 ml et diluer en ajoutant 28 ml d'eau distillée par millilitre de H_2SO_4 24.1 N employé. La concentration est maintenant de 4% w/w ou 0.82 N. Couvrir avec un verre de montre.
L'hydrolyse secondaire est effectué dans un autoclave préalablement chauffé à 95°C.
Placer l'échantillon dans l'autoclave et maintenir la température à 120°C pour 1 heure. Retirer l'échantillon et refroidir.
NOTE: S'assurer de connaître le fonctionnement de l'autoclave.

Filtration du résidu insoluble (s'il y a lieu)

- Laisser le matériel insoluble décanter puis filtrer sur un verre fritté.

Neutralisation

- Noter précisément le volume total d'échantillon (V_1).
- Prélever 10 ml (V_2) et placer dans un tube à centrifugation.
- Neutraliser avec $Ba(OH)_2$, saturer (≃ 70 g/l de $Ba(OH)_2.8\ H_2O$) jusqu'à un pH de 6.0 ± 0.2 puis centrifuger à nouveau. Décanter.
- Evaporer à sec, sécher à 105°C 1 heure, peser (M_3).
- Les monosaccharides peuvent être quantifiés par GC (méthode #D-2) ou HPLC (méthode #D-1).

Calculs

Monosaccharides recueillis: $\frac{(M_3 - M_2) \times V_1}{V_2} = mg$

Rendement de l'hydrolyse (%): $\left[\frac{(M_3 - M_2) \times V_1}{V_2} / M_1\ (1 - H_1)\right] \times 100$

NOTE: Lorsque vous effectuez l'analyse quantitative des monosaccharides après hydrolyse, il faut tenir compte des facteurs de recouvrement des sucres lors de l'hydrolyse. Ces facteurs sont utilisés comme diviseur de la quantité de sucre dosé pour calculer la quantité présente dans l'échantillon initial.

Sucre	Facteur de recouvrement
Glucose	0.95
Mannose	0.916
Galactose	0.957
Arabinose	0.924
Xylose	0.866

MÉTHODE #A-6

Dosage semi-quantitatif du fer en solution

- Méthode colorimétrique par le thiocyanate de potassium
- Méthode colorimétrique par papier indicateur

Principe et applicabilité

Ces méthodes permettent de déterminer la concentration de Fe^{+2} et Fe^{+3} dans un hydrolysat provenant des réacteurs. Si cette concontration excède 20 ppm, il faut enlever les cations métalliques selon la méthode #A-7.

Méthode A Dosage par le thiocyanate de potassium

Réactifs

- Standard Fe^{+++} 20 ppm
  Dissoudre 0.145 g de $Fe(NO_3)_3.9H_2O$ dans 1 litre d'eau.

- Thiocyanate de potassium 1 M
  Dissoudre 9.72 g de KSCN dans 100 ml d'eau.

- Acide chlorhydrique 6 M
  Ajouter lentement 500 ml de HCl conc. à 500 ml d'eau dans une bouteille de 1 L.

- Peroxyde d'hydrogène 6%
  Ajouter avec précaution 200 ml H_2O_2 30% (porter des gants!) à 800 ml H_2O dans une bouteille de 1 L en plastique.

Protocole

- Placer 5 gouttes d'échantillon dans une éprouvette d'environ 13 x 100 mm.
- Ajouter 3 gouttes de HCl 6 M. Mélanger.

- Ajouter 5 gouttes de H_2O_2 6%. Mélanger.
  $2\ Fe^{+2} + H_2O_2 + 2H^+ \rightarrow 2Fe^{+3} + 2H_2O$
- Ajouter environ 1 ml de KSCN 1 M. Mélanger.
  $Fe^{+3} + 3SCN^- \rightarrow Fe(SCN)_3$
  (rouge-pourpre)
  L'apparition d'une coloration rouge-pourpre à rose-saumon indique la présence de fer.
- Comparer l'échantillon avec un standard de Fe^{+3} (20 ppm) ayant subit la même procédure.

Méthode B Dosage par papier indicateur

Réactifs

- Acide ascorbique
- Papier indicateur "Eisen-test" de Merck (BDH # M 10054-01)

Protocole

- Prélever 5 ml de l'échantillon original et placer dans une éprouvette 18 x 150 mm environ.
  Si l'échantillon est trop coloré, diluer suffisamment.
- Vérifier si le pH de l'échantillon et entre 1 et 7 (papier tournesol bleu).
- Ajouter le bout d'une spatule (0.3 g) d'acide ascorbique dans l'éprouvette. Agiter quelques secondes.
- Tremper un papier indicateur dans la solution (en moins de 15 secondes).
- Comparer la coloration de l'indicateur avec les codes de couleurs sur le flacon.
- Lire directement la valeur de fer total présent par comparaison colorimétrique. (ppm de fer ou mg/l).

MÉTHODE #A-7

Elimination des cations métalliques dans les hydrolysats

Principe et applicabilité

Les échantillons provenant d'une hydrolyse acide contiennent une certaine quantité de cations métalliques provenant de la dégradation des réacteurs. Il s'agit principalement du fer mais on retrouve aussi du cuivre et du nickel.

Dans les hydrolysats provenant du réacteur en cascade, la concentration peut atteindre 700 ppm. Dans ceux provenant du PDU, elle dépasse rarement 100 ppm.

Le passage d'un hydrolysat sur une résine chélatante permettra d'enlever tous les cations di- et trivalents sans modifier la composition en sucre. Le protocole a été conçu pour des hydrolysats contenant 700 ppm de métaux.

Instrumentation et réactifs

- Résine Chellex-100 (Bio-Rad)
- HCl 1.0 N
- Colonne chromatographique (EconoColumn, Bio-Rad)

Protocole

- Vérifier la concentration de fer (indicateur) dans l'hydrolysat par un des tests suivants:
  - test au thiocyanate de potassium
  - "Eisen test" (papier indicateur)

  Ces tests sont décrits à la méthode #A-6
- Suspendre 2.2 g x n de résine Chellex-100 dans de l'eau distillée
  n = nombre d'échantillons à traiter
- Titrer la résine avec HCl 1 N jusqu'à pH < 5
- Rincer avec H_2O
  - Passer 20 ml d'échantillon (préalablement neutralisé jusqu'à pH 6.0 et filtré sur Whatman #50)

- Recueillir l'échantillon à partir du moment où il n'est plus dilué (recueillir environ 15 ml)
- Vérifier l'absence de fer par le papier indicateur ou par le test au thiocyanate de potassium

  NOTE:

  Une concentration de fer inférieure à 20 ppm est acceptable
- Conserver l'échantillon à 4°C

MÉTHODE #A-8

Dosage des métaux dans la biomasse

Principe et applicabilité

La méthode employée (1) a été développée pour l'analyse des éléments dans les charbons. Elle s'applique également à la biomasse et permet de déterminer, dans les cendres, les proportions de SiO_2, Al_2O_3, Fe_2O_3, CaO, MgO, Na_2O, K_2O, TiO_2 et MnO_2.

Instrumentation

- Four à cendres ayant une ventilation et une régulation de température entre 700 et 750°C.
- Four à fusion pouvant opérer à 1000°C.
- Creuset de platine (capacité entre 35 et 85 ml).
- Plaque chauffante avec agitation.
- Spectrophotomètre à absorption atomique.

Réactif

Note: - les réactifs doivent être de grade A.C.S.
- le tétraborate de lithium et le chlorure de lanthane ne doivent pas être contaminés avec des métaux alcalins et des alcalino-terreux.

- Solution de HCl: diluer 50 ml de HCl concentré (D:1.19) à 1 litre avec de l'eau distillée.
- Tétraborate de lithium ($Li_2B_4O_7$) en poudre.
- Solution de chlorure de lanthane: 175 g/l de $LaCl_3$.

- Metavanadate de sodium ($NaVO_3$).
- Molybdate de sodium (Na_2MoO_4).
- Solution-mère d'aluminium (1000 ppm Al).
- Solution-mère de barium (1000 ppm Ba).
- Solution-mère de calcium (1000 ppm Ca).
- Solution-mère de fer (1000 ppm Fe).
- Solution-mère de magnésium (1000 ppm Mg).
- Solution-mère de manganèse (1000 ppm Mn).
- Solution-mère de potassium (1000 ppm K).
- Solution de silice (200 ppm Si).

Cette solution peut être préparée en fusionnant 0.1070 g de silice (grade spectro) avec 1 g de tétraborate de lithium. Dissout dans la solution de HCl et dilué à 250 ml.

- Solution-mère de sodium (1000 ppm Na).

- Solution-mère de titane (1000 ppm de Ti).

Protocole

a) Préparation des cendres

Prendre un échantillon représentatif de la biomasse (besoin de 100 mg de cendres) ayant une granulométrie de 0.25 mm (60 mesh). L'échantillon est étendu sur une assiette de procelaine et chauffé graduellement dans le four à cendres de façon que la température atteigne 500°C en 1 heure et 750°C en deux heures. Laisser à 750°C jusqu'à ce que toute la matière carbonée soit disparue.

Refroidir, transférer dans un mortier et moudre jusqu'à 75 µm de granulométrie (200 mesh). Remettre à 750°C pour 1 heure. Refroidir rapidement et peser immédiatement les portions de 0.1 ± 0.0002 g pour l'analyse dans des creusets de platine.

b) Fusion et solution

Ajouter au 0.1 g d'échantillon, 0.5 g de $Li_2B_4O_7$, mélanger et couvrir avec 0.5 g de $Li_2B_4O_7$.

Placer dans le four pré-chauffé à 1000°C pour 15 minutes.

Refroidir et rincer l'extérieur du creuset pour enlever les particules contaminantes.

Placer le creuset dans un bécher de 250 ou 400 ml.

Mettre un barreau magnétique enrobé de TFE-fluorocarbone dans le creuset et ajouter 150 ml de HCl au creuset et au bécher et placer immédiatement sur un agitateur chauffant.

Chauffer juste en dessous du point d'ébullition et laisser entre 25-30 minutes sous agitation. Ceci devrait suffir pour tout dissoudre.

Note: l'agitation ne doit pas être interrompue.

Refroidir et transférer quantitativement dans une fiole jaugée de 200 ml. Rincer bécher et creuset avec la solution de HCl et compléter à 200 ml avec HCl. Cette solution est de 500 ppm et contient 5 g/litre de $Li_2B_4O_7$.

c) Solutions d'échantillons

Solution 1: tel quel, 500 ppm et 5 g/l de $Li_2B_4O_7$.

Solution 2: 200 ppm et 2 g/l de $Li_2B_4O_7$.
20 ml de la solution 1 dans une fiole jaugée de 50 ml.
Compléter avec HCl.

Solution 3: 50 ppm et 0.5 g/l de $Li_2B_4O_7$.
10 ml de la solution 1 dans une fiole jaugée de 100 ml.
Ajouter 10 ml de la solution de $LaCl_3$.
Compléter avec HCl.

d) Solutions de référence

Solution 1: 2 g/l de $LiBa_4O_7$ dans la solution de HCl.

Solution 2: 0.5 g de $LiBa_4O_7$, 50 ml de HCl concentré et 100 ml de $LaCl_3$.
Diluer à 1 litre avec H_2O.

Solution 3: 5 g/l de $Li_2B_4O_7$ dans la solution de HCl.

e) Solutions standards

Toutes les solutions standards sont de 100 ml et la dilution est faite avec la solution de référence appropriée (voir tableau). Si une autre solution doit être ajoutée, le volume de celle-ci en ml/100 ml de solution standard est indiqué dans le tableau. La plage de concentration des standards est indiquée dans le tableau en ppm.

Calcul

Formule générale pour la concentration en % dans les cendres sèches:

$$\% \text{ Elément oxydé: } [(C-D)/(A-B)] \times N \times F$$

A: absorbance du standard le plus près de C
B: absorbance de la solution de référence
C: absorbance de l'échantillon
N: élément dans le standard (ppm)
F: facteur de conversion (voir tableau)

La concentration dans les cendres peut être convertie sur la base du matériel initial par:

$$C = \frac{AB}{100}$$

C: % du matériel initial
A: % dans les cendres
B: % de cendres du matériel initial

Remarque: Préparation des creusets de platine
Ils doivent être bouillis dans la solution de HCl et rincer à l'eau. Une fois propre, la vaisselle doit être manipulée de façon à éviter toute contamination.

Référence

1) ANSI/ASTM D-3682-78, "Major and minor elements in coal and coke ash by atomic absorption".

Element	Solution standard	Solution de référence	Solution d'échantillon	λ (nm) lampe	Flamme	Facteur de conversion F
SiO_2	20-50 ppm 1 ml solution Al	1	2	251.6	Ox. de N_2 Acétylène	1.07
Al_2O_3	10-30 ppm	1	1	309.2	"	0.94
Fe_2O_3	2-10 ppm 10 ml $LaCl_3$	2	3	248.3	Air Acétylène	2.86
CaO	1-10 ppm 10 ml $LaCl_3$	2	3	422.7	Air/Acét.	2.80
MgO	0.5-2 ppm 10 ml $LaCl_3$	2	3	285.1	Air/Acét.	3.32
Na_2O	0.5-2 ppm 10 ml $LaCl_3$	2	3	589.0	Air/Acét.	2.70
K_2O	0.5-2 ppm 10 ml $LaCl_3$	2	3	766.5	Air/Acét.	2.41
TiO_2	3 ppm	3	1	364.3	Ox. N_2/Acét.	1.00
MnO_2	0.5 ppm	3	1	279.5	Air/Acét.	0.16

MÉTHODE #A-9

Détermination du carbone, de l'hydrogène et de l'azote par analyse élémentaire

Principe et applicabilité

Le système d'analyse élémentaire que nous possédons (Perkin-Elmer) est automatisé et permet d'analyser tous les types d'échantillon liquide ou solide.

Cette technique (groupe III) nécessite une formation adéquate. Le texte qui suit n'est qu'un aide-mémoire pour le fonctionnement de l'appareil et contient de nombreux renvois au document du manufacturier. Les conditions d'opération doivent être suivies à la lettre afin d'éviter une détérioration prématurée des différents composés (ex.: Cuprin) qui sont remplaçables mais très dispendieux.

Préparation de l'instrument

1- On vérifie le débit d'hélium par le petit tube à gauche à l'intérieur du système.

2- Laisser le sélecteur en position 9.

3- Laisser le détecteur ON (la lumière jaune éteinte).

4- Laisser le bouton bleu allumé C X 10.

5- Laisser le détecteur output à "A" (automatic).

6- On vérifie les pressions O_2 ZERO 23 psi ou 160 Kpa
He ZERO 18 psi ou 122 Kpa

La pression d'hélium doit être ajustée pour que pendant le cycle d'analyse la lumière START s'éteigne de 3 à 60 secondes à l'étape 5.

7- On vérifie la tempéeature des fours:
600 à 650°C (Réduction)
900 à 950°C (Combustion)
Les ajustements sont à l'intérieur au centre et doivent être à 5.2.

8- On vérifie les trappes à l'intérieur à gauche:
La trappe au CO_2 se sature vite (l'ascarite devient plus pâle).
La trappe à l'eau: le composé blanc s'agglomère.

NOTE: Pour remplacement des trappes et tubes à réduction et combustion, voir manuel de l'appareil, pages 1-6 à 1-13 inclusivement.

9- On vérifie les atténuations de temps en temps durant l'année.

Carbone:
- peser sur START et attendre la lecture du carbone à 10 1/2".
- mettre le bouton sélecteur POWER à HOLD.
- mettre l'atténuation à 5 et ajuster à 0 avec le bouton à l'intérieur si nécessaire
- mettre à atténuation 4 et il faut lire 100% ± 1/2 division
- le redescendre à 0 et recommencer jusqu'à atténuation 0
- si à chaque atténuation la lecture est 100% ± 1/2 division, l'atténuation du carbone est satisfaisante, sinon voir le manuel d'instruction p. 4-15.

Hydrogène et azote:
- peser sur START et attendre la lecture d'AZOTE à "10", d'HYDROGÈNE à "11"
- mettre à HOLD
- ajuster à 100 et mettre atténuation X 4 (cela doit être égal à 25) sinon voir manuel à la Section 4-D.

Analyse et calibration

1- L'analyse se fait en deux temps:
a) lecture "blancs" à partir de "6"
b) lecture "échantillons" à partir de "10"

2- Mettre la broche qui tient les deux boutons enfoncés INJ-COMB et START pendant ½ heure à 1 heure, introduire la tige de quartz au début et la retirer à la fin (fragile).

3- Blanc:
- peser sur START
- quand INJ-COMB s'allume, on fait pénétrer la tige de quartz avec un bateau sans échantillon; peser sur INJ-COMB
- on retire à "9" pour qu'il se refroidisse
- à "6", on met le détecteur à HOLD et on ajuste N = 250, C = 1000 (100 sur le papier) et H = 350.

Ces valeurs sont ajustées pour différencier les lectures et fait juste une fois. On prend les valeurs et on fait le calcul du "BLANC" sur des feuilles à cet effet (manuel section #3).

4- Echantillon: peser dans un bateau un échantillon de 1,5 à 3,0 mg sur une balance à 7 décimales et l'introduire au bout de la tige de quartz puis introduire la tige dans le four.
- peser sur START
- quand INJ-COMB s'allume introduire la tige à l'aide d'un aimant dans le four; peser sur INH-COMB
- prendre les lectures en atténuant si nécesaire et ressortir la tige à "9" ou à la fin
- faire le calcul sur la feuille prévue à cet effet.

Pour calibrer on prend l'acétanilide ou l'acide Benzoïque comme standard et on fait le calcul sur la feuille prévue à cet effet. Les exemples de calculs sont à la section 3-2 du manuel d'instruction.

5- A la fin remettre à "9".

NOTE: Dans le cas d'échantillons liquides, il faut utiliser les capsules d'aluminium qui seront scellées. Dans ce cas, les calibrations devront être faites avec ces mêmes capsules.

Calculs

Utiliser les feuilles prévues à cet effet. Elles contiennent toutes les informations nécessaires (voir M. Trottier ou S.T. Nguyen).

Section B

Analyse des macromolécules des échantillons solides

MÉTHODE #B-1

Détermination des cellulose, hémicellulose et lignine par analyse thermique

But et applicabilité

La cellulose perd 62% de son poids à 320°C dans des conditions expérimentales bien précises. La présence de lignine, plus stable thermiquement, réduira l'importance de cette perte de poids à 320°C de façon linéaire avec sa concentration. Les hémicelluloses, thermiquement plus fragiles, se dégraderont avant 320°C. C'est sur ces trois prémisses que la méthode fut développée (1). Le principal avantage de cette méthode est son temps d'exécution (1.5 hre). Son principal défaut est une possibilité de mauvaise interprétation si les comportements thermiques varient pour une raison quelconque.

La condition essentielle pour faire une détermination est que l'échantillon doit contenir au moins 30% de cellulose.

Conditions d'opération

- Vérifier que ce sont les câbles de TG qui sont branchés dans le contrôleur (et non DSC).
- Vérifier sur le transformateur (sous la table) que les câbles identifiés D et G sont dans les bonnes prises (125 volt).
- Ouvrir les instruments:
  - contrôleur
  - ordinateur
  - imprimante
  - lecteur de disques
  - acquisiteur de données
  - table traçante
- Ouvrir la circulation d'eau de la fournaise.
- Ouvrir l'air et vérifier le débit (100 ± 10 cc/min.).

---

(1) Bouchard, J., Léger, S., Chornet, E., Overend, R.P., Biomass, 9 (1986).

- Vérifier les paramètres du système de contrôle
  - échelle de poids: 50 mg
  - échelle de voltage: 0.2 mV
  - thermocouple: type S (Pt-10% Rh/PT)
  - contrôleur 413: Xp = 6, tn = 6, Tv = 2

Préparation de l'échantillon

- L'échantillon de biomasse doit être extrait à l'eau et avoir une granulométrie de 0.5 mm.
- S'assurer que la balance est désengagée et soulever le four.
- Retirer le creuset de la tige verticalement et délicatement.
- Introduire 25 ± 2 mg d'échantillon dans le creuset.
- Remettre délicatement le creuset sur la tige, rabaisser le four jusqu'à enclenchement.
- Engager la balance et allumer la lumière.
- L'échelle mobile devrait indiquer 50 mg, sinon ajuster avec le bouton à droite.
- Fermer la lumière (IMPORTANT!)

NOTE:
- Si la tige ne semble pas verticale, avertir le responsable.
- Si c'est la tige de DTA qui est installée, la procédure est la même sauf qu'il faut s'assurer que le creuset de référence contient 25 ± 2 mg de SiO_2.

Procédure d'analyse

A) Système informatique

Insérer la disquette (port "0", :D700)

- Load "thermal" (E), RUN
- N (new run)
- S (thermocouple)
- T (type of run)
- N (no buoyancy)
- (5) E (isothermal time)
- 0 (entrer dans fiche d'identification)
- NOM (E)

- DATE (E)
- Run number (E) (voir le numéro dans cahier d'utilisateur)
- 50 (E)
- Echantillon (E)
- 0.2 (E)
- - (E)
- Alumine (E)
- Air (E)
- 100 (E)
- 30,700 (E)
- 10 (E)
- N (E)
- 1,000 (E)

  z (s'il n'y a rien à corriger)
- poids de l'échantillon (E)
- poids de la référence (E)
- 50 (E)

  A ce moment, l'écran trace le graphique et l'acquisiteur se met en marche. Il faudra atteindre 30°C pour que les données commencent à être enregistrées.

  Arret d'urgence = K_1

B) Programmer 413

Deux cas sont possibles et ils sont expliqués dans cet ordre:

- L'appareil était verrouillé, il faut donc le reprogrammer.
- L'appareil était déverrouillé, il faut rappeler le programme.

NOTE: Les réponses que vous devez entrer sont imprimées en caractères gras.

```
* Emergency reset *
Progr

Input of data?
C
```

```
Register No.?
I E

Free segments 197
E

Input of data
E

TC. Type S
E

Register No.?
I E

Free segments 197
E

STMP. TEMP
0020 E

1  1  TEMP  RATE  HHMM
0250 250 E

1  2  TEMP  RATE  HHMM
0250 005 E

1  3  TEMP  RATE  HHMM
0750 100 E

1  4  TEMP  RATE  HHMM
0750 005 E
```

Réponder E à toutes les questions jusqu'à "END OF INPUT".

Partie commune au deux cas:

R
Emergency reset
TEST et appuyer sur + pour vérifier le programme
BETRIEB
Ready for start
S
L'analyse est maintenant en route
Arrêt d'urgence: R

Emmagasinage des données

- Mettre une disquette initialisée (porte "1", :D701)
- k10 (store)
- P
- Nom du fichier (E)

Traçage du graphique

Il est possible de manipuler les données de différentes façons. Celle qui est décrite ici est celle qui produira un graphique identique à celui utilisé pour les calculs.

k_1
k_6 (zoom)
P
A
z
0,1000,0,105 (E)
Installer les plumes et du papier pour la table traçante
k_{10} (plotter)
k_2 (axes)
P
k_9 (labels)
P
k_5 (TG plot)
P

1 (E)
k_{12} (TG' plot)
P
1 E

Le graphique est maintenant tracé

Refroidissement de l'appareil

- Désengager la balance.
- Lorsque T < 600°C, enlever le bouchon réfractaire.
  T < 400°C, envoyer de l'air dans le four par le haut.
  T < 200°C, soulever le four et envoyer de l'air par le bas.
- Enlever le creuset et le nettoyer à l'air comprimer
- Remettre délicatement le bouchon réfractaire.
- Si vous avez une autre analyse, reprendre à la section "Préparation de l'échantillon".

Arrêt de l'appareil

- Remettre le creuset en place et refermer le four.
- Eteindre tous les instruments.
- Si vous quittez, verrouiller l'appareil.

Calculs des résultats

Sur le graphique, il y a 3 mesures à effectuer:

1- le % de poids sans humidité (mesuré à 200°C)
2- le % de poids au coude caractéristique
3- le % de poids au point d'inflexion (s'il y a des hémicelluloses).

Ces mesures sont effectuées manuellement (malheureusement!) avec une règle. Sur les graphiques 25% = 28.8 mm donc chaque mm mesuré représente 0.868% du poids.

Les deux figures suivantes représentent la méthode de mesure pour une cellulose pure et un bois natif. Voici les étapes:

1- Tracer 3 lignes
   - de 100 à 250°C
   - la partie la plus abrupte de perte de bois
   - la partie juste après le coude
2- Mesurer le poids restant à 200°C = x_1%
3- Mesurer le poids restant à l'intersection des deux droites au coude = x_2%
4- Mesurer le poids restant au point où la droite quittent le thermogramme dans la région de 300°C = x_3%
   NOTE: Cette mesure nécessite une certaine pratique.
   Tabuler x_1, x_2 et x_3 pour toutes vos analyses. Ces données seront entrées dans le chiffrier électronique.

<u>Utilisation du fichier électronique</u>

- Allumer les appareils (imprimante également)
- Entrer la disquette "VISICALC" en :D700
- LOADBIN "VZCALC" (E)
- VC (E) (équivalent de RUN)
- Entrer la disquette contenant le fichier en :D701
- /SM
- :D701 (E)
- /SL
- HOL-LIG-RF (E) (le fichier entre dans VISICALC ≈ 2 min.)
- /GRM (pour calcul manuel)

Vous être maintenant prêts à entrer les données. Le fichier est divisé en 3 sections:
- Colonnes A à D: données brutes
- Colonnes E à G: calculs préliminaires
- Colonnes I à M: résultats

NOTE: Le fichier contient déjà des données mais cela n'a pas d'importance; vous écrirez par dessus.

- Le curseur illuminé se déplace avec les flèches du clavier
- Entrer dans la colonne A (de A6 à A26) les noms des échantillons
- Vous avez droit à 6 espaces et l'identification doit commencer par une lettre
- Une fois les noms entrés, faire la commande suivante après avoir placé le curseur en A6
- /R . Ax (E) I6.I6 E

  ↑

  x = numéro du dernier échantillon

  Ceci a pour effet de répliquer la colonne A en I
- Entrer dans la colonne C (de C6 à C26) les valeurs de x_1
- Entrer dans la colonne D (de D6 à D26) les valeurs de x_2
- Entrer dans la colonne F (de F6 à F26) les valeurs de x_3
- /GRA (calcul automatique ≃ 1 min.)

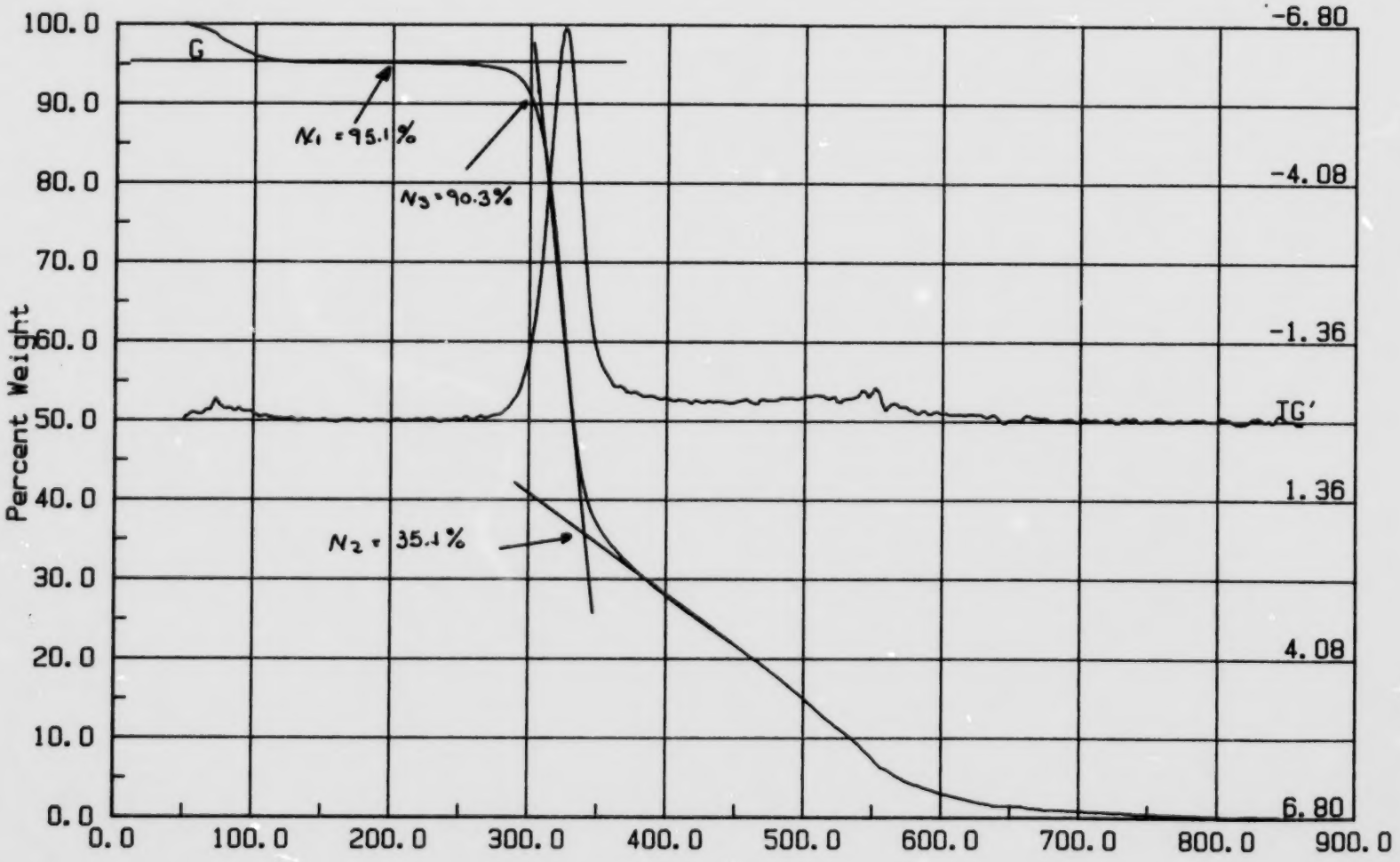
Il ne reste plus qu'à imprimer les résultats

- S'assurer que l'imprimante est fonctionnelle
- Placer le curseur en A1

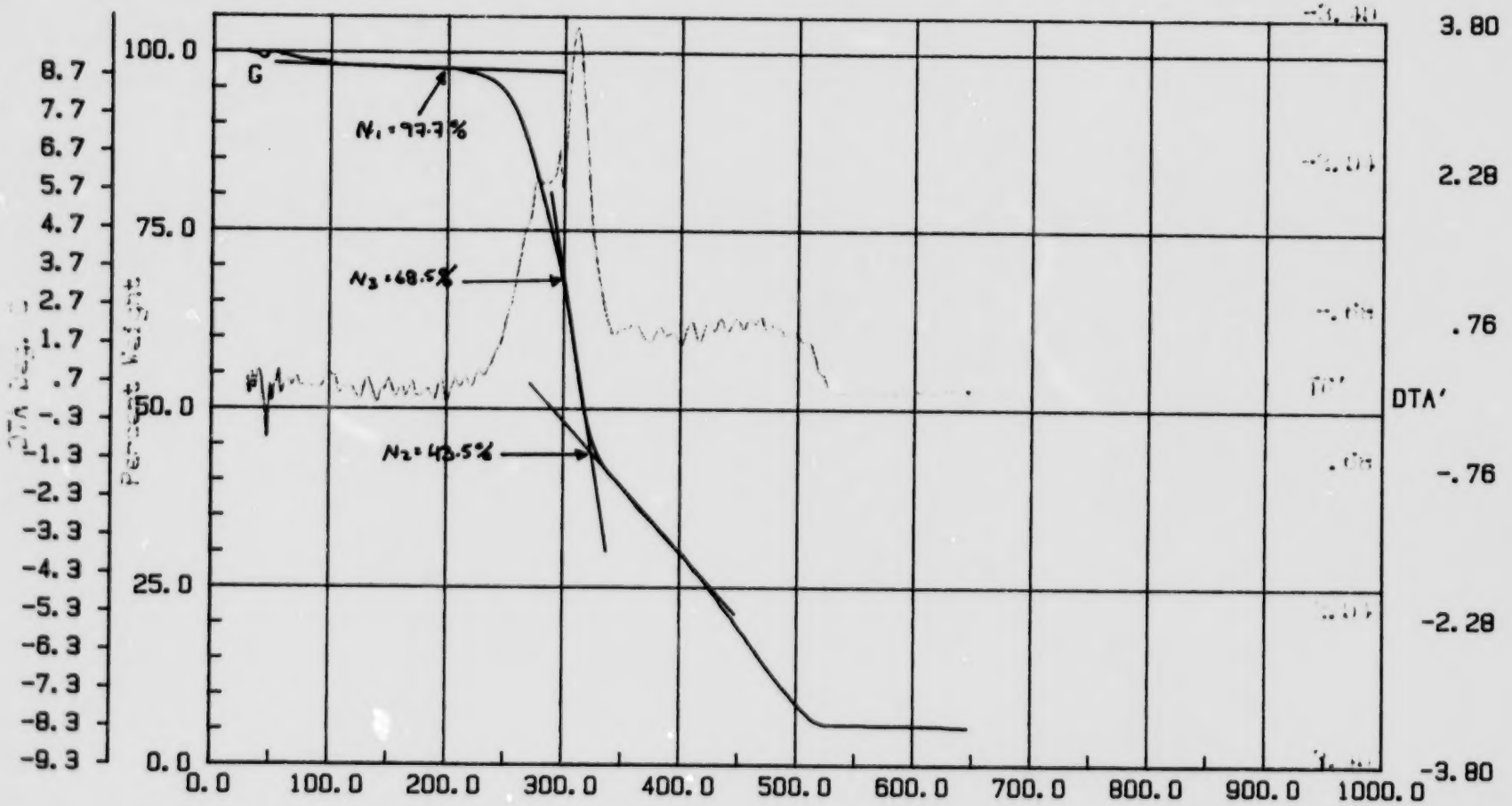
  NOTE: x représente le numéro du dernier échantillon
- /P
- N
- 701 (E)
- 80 (E)
- Gx (les colonnes de A à G s'impriment)
- Placer le curseur en I1
- /P
- C
- Mx (les colonnes de I à M s'impriment)
- Retirer les disquettes et fermer le tout

Les 3 figures suivantes illustrent les calculs pour une cellulose pure, un bois natif et le tableau imprimé du chiffrier électronique.

OPERATOR: TSN DATE: 04/02/85 RUN No. 172 TG SETTING mg 50 MATERIAL : AVI/SiO2DESSOUS	NETZSCH STA 429/409 REFERENCE : SiO2 CRUCIBLE : ALUMINE FILE NAME : CE-AVI/2 DTA SETTING mV .2	ATM. AIR FLOW = 80 cc/min HEAT RATE = 10 C/min SAMPLE WT. = 25.3 mg REFERENCE WT. = 67.5 mg	FILTRE : 2



OPERATOR: TSH DATE: 05/12/83 RUN No. 254 TG SETTING mg 50 MATERIAL : TI-6Al-4V	METHOD: STA 1000/1100 ATMOSPHERE : STAT CRUCIBLE : ALUMINE FILE NAME : 254 DTA SETTING mV 0.2	AIR: Air FLOW = 100 cc/min HEAT RATE = 10 °C/min. SAMPLE WT. = 25.1 mg REFERENCE WT. = 25.1 mg	**FILTRE 4 FOIS**



DONNEES DES THERMOGRAMMES

ECHAN.	HUMID. %	N_1 DEBUT %	N_2 COUDE %	N_3 HEMI. %	DECARB %	HEMI CALC
C-AVI		95.10	35.10	90.30	63.09	5.05
BOIS		97.70	43.50	68.50	55.48	29.89

RESULTATS BASE SECHE

ECHAN.	HOLO %	LIGN %	HEMI %	CELL %
C-AVI	99.56	0.44	-0.90	100.46
BOIS	81.67	18.33	28.88	52.78

MÉTHODE #B-2

Détermination de l'holocellulose du bois

Principe et applicabilité

L'holocellulose est la fraction complète des sucres du bois. Celle-ci est obtenue par solubilisation de la lignine. Deux méthodes standards existent. La première (1, 2) est une chlorination de la lignine suivie d'une extraction avec une solution de monoéthanolamine dans l'éthanol. Cette méthode, recommandée pour les déterminations quantitatives n'est pas employée au laboratoire. La seconde (3, 4, 5), qui est l'objet de ce protocole, est une attaque acide par le chlorite de sodium de la lignine pour former des produits solubles. Cette méthode est recommandée pour la préparation d'holocellulose parce que plus simple mais la difficulté de contrôle du traitement fait en sorte que le résidu peut contenir de la lignine ou bien avoir perdu des sucres.

Instrumentation et réactifs

- Creuset en verre fritté (grande porosité)
- Erlenmeyer de 500 ml
- Acide acétique
- Chlorite de sodium ($NaClO_2$)
- Acétone

---

(1) TAPPI Standard method T9, 1954.

(2) ASTM Standard D-1104, 1956.

(3) Jayme, G., Preparation of holocellulose and cellulose with sodium chlorite. Cellulosechem., 20: 43. 1942. (Mar.-Apr.).

(4) Wise, L.E., Quantitative isolation of hemicelluloses from coniferous woods. Ind. and Eng. Chem., Anol. Ed. 17: 63. 1945.

(5) Wise, L.E., Murphy, M., and D'Addieco, A.A., Chlorite holocellulose, its fractionation and bearing on summative wood analysis and on studies on the hemicelluloses. Paper Trade J. 122(2): 35. 1946.

Procédure

1- Peser précisément environ 5 g d'échantillon (M_1) dont on a préalablement mesuré l'humidité (H1) et qui est libre d'extractibles
2- Mettre dans un erlenmeyer de 500 ml
3- Ajouter 160 ml d'eau distillée

NOTE: Faire les prochaines additions dans une hotte, porter gants et lunette

4- Ajouter 0.5 ml d'acide acétique glaciale
5- Ajouter 1.5 g de chlorite de sodium ($NaClO_2$)
6- Couvrir d'un verre de montre et placer l'erlenmeyer dans un bain d'eau à 70-80°C pendant une heure en agitant de temps en temps
7- Après une heure, ajouter 0.5 ml d'acide acétique et 1.5 g de $NaClO_2$
- Après deux heures, ajouter 0.5 ml d'acide acétique et 1.5 g de $NaClO_2$
8- Après la troisième heure (le bois non traité nécessite 4 traitements), placer l'erlenmeyer dans un bain de glace jusqu'à ce que sa température soit d'environ 10°C
9- Filtrer dans un creuset en verre fritté à grandes pores, sécher et peser (M_2)
10- Rincer l'erlenmeyer avec de l'eau à 10°C et laver ensuite l'holocellulose avec environ 250 ml de cette eau, afin d'enlever l'excès de chlorite et la couleur jaunâtre
11- Rincer ensuite avec environ 250 ml d'eau distillée à la température de la pièce
12- Bien essorer et rincer avec de l'acétone
13- Sécher à l'air ambiant et peser (M_3)
14- Prélever un aliquot de 2 g et mesurer l'humidité (H2)

Calcul

Rapporter le % d'holocellulose pour 100 g de bois sec et libre d'extractibles.

$$\% \text{ holocellulose} = \frac{M_3 - M_2 (1 - H_2) \times 100}{(M_1 (1 - H_1)}$$

MÉTHODE #B-3

Détermination de α-cellulose du bois

Principe et applicabilité

Cette méthode est applicable sur du bois libre d'extractibles et de lignine donc sur l'holocellulose (voir méthode #B-2) (1,2). L'holocellulose est consécutivement extraite avec des solutions de NaOH de 17.5% et 8.3% à 20°C (9.45% et 25°C dans le cas de TAPPI). L'α-cellulose est la fraction qui demeure insoluble. La fraction qui précipite lors de l'acidification de l'extrait alcalin est la β-cellulose (cellulose dégradée) et celle qui demeure en solution, γ-cellulose ou hémicelluloses. La méthode décrite ci-après provient de ASTM (1).

NOTE: Porter gants et lunettes.

Réactifs

- Hydroxyde de sodium 17.5%:
  - Mesurer précisément 291.7 ml de NaOH 10N.
  - Mettre dans un ballon jaugé de 500 ml et remplir d'eau distillée.
- Hydrolyde de sodium 8.3%:
  - Mesurer précisément 277 ml de NaOH 10N.
  - Mettre dans un ballon jaugé de 1 litre et remplir d'eau distillée.
- Acide acétique 10%:
  - Mesurer précisément 50.0 ml d'acide acétique glaciale.
  - Mettre dans un ballon jaugé de 500 ml et remplir d'eau distillée.

---

(1) ASTM Standard D-1103-60 (Reappr. 1977).

(2) TAPPI Standard T203 05-1974.

Instrumentation

- Erlenmeyer de 250 ml
- Creuset de verre fritté (porosité moyenne ou grande)

Protocole

- Peser précisément environ 2 g d'holocellulose séché à l'air libre et dont on connaît l'humidité (M_1, H_1)
- Mettre dans un erlenmeyer
- Mesurer 25 ml, dans un cyclindre gradué, d'hydroxyde de sodium 17.5%
- Verser 10 ml de NaOH 17.5% dans l'erlenmeyer et bien imbiber à l'aide d'une tige de verre
- Après 5 min., ajouter 5 ml de NaOH
- Après 10 min. de la première addition, ajouter encore 5 ml de NaOH
- Après 15 min., ajouter la dernière portion de NaOH 17.5% et laisser reposer 30 min.

(Temps total à partir de la première addition: 45 min.)

- Ajouter 33 ml d'eau distillée (ceci permet de diluer la concentration de NaOH à 8.3%)
- Agiter et laisser reposer pendant une heure
- Filtrer dans un creuset en verre fritté à grandes pores, préalablement séché et pesé (M_2)
- Rincer l'erlenmeyer avec 100 ml de NaOH à 8.3%
- Laver avec environ 200 ml d'eau distillée
- Couper le vide et ajouter 15 ml d'acide acétique à 10%, maintenir en contact avec l'alpha-cellulose pendant 3 min.
- Brancher le vide et laver avec de l'eau distillée jusqu'à la neutralité de l'eau de lavage, (tester avec un papier pH)
- Mettre le creuset à l'étuve à 105°C pendant la nuit
- Sortir de l'étuve, laisser refroidir et peser (M_3)

Calcul

$$\% \ \alpha\text{-celulose dans l'holocellulose: } \frac{M_3 - M_2 \times 100}{M_1 (1 - H_1)}$$

$$\% \ \alpha\text{-cellulose dans bois sec et extrait} = \frac{\% \text{ holo ds bois} \times \% \ \alpha\text{-cell ds holo}}{100}$$

MÉTHODE #B-4

Détermination de la cellulose du bois

Principe et applicabilité

La méthode de détermination de la cellulose à partir du bois fut développée par Kürschner et Hoffer (1). Le bois est traité par de l'acide nitrique dans l'éthanol en trois ou quatre étapes. La cellulose obtenue est relativement pure mais dégradée par les effets hydrolytiques.

Réactifs

- Acide nitrique concentrée (d: 1.49)
- Ethanol 96%
- Ether diéthylique

NOTE: Porter lunette et gants et manipuler l'acide nitrique avec une précaution extrême (c'est le plus corrosif pour la peau).

Instrumentation

- 2 erlenmeyer de 250 ml à col rodé
- 2 creusets de verre fritté #3
- 2 condenseurs
- 2 bains-marie

Protocole

- L'analyse est faite en duplicata
- Peser exactement 2 fois 1,7 g environ de sciure (.5 mm) extraite à l'alcool-benzène dont le % d'humidité est connu (ME), (H_1)
- Introduire les échantillons dans 2 erlenmeyers à col rodé

---

(1) Kürschner, K., Hoffer, A., Tech. Chem. Papier-Zellst.-Fabr, 26 (1929), 125-139.

- Préparer le réactif nitro alcoolique, ce mélange doit être frais: pour cela verser dans un erlenmeyer plongeant dans un bac de glace, 40 ml d'alcool à 96° minimum (ou mieux alcool absolu), puis ajouter lentement et avec beaucoup de précautions 10 ml d'acide nitrique fumant en faisant attention aux éventuelles projections. La réaction est exothermique.
- Verser le mélange obtenu sur le premier échantillon, refaire de même pour le deuxième
- Adapter les réfrigérants et porter à douce ébullition au bain-marie pendant 1 heure exactement (voir Figure 1)
- Laisser refroidir. Décanter le liquide sur un creuset de verre fritté n° 3 préalablement taré (M_1), en évitant de faire passer des fibres sur le creuset. Essorer à la trompe à vide. La faible portion qui pourrait être entraînée sera remise dans la fiole à l'aide d'une spatule.
- Après décantation, recommencer une autre attaque avec à nouveau 50 cm^3 de mélange nitro alcoolique pendant 1 heure. Décanter de même.
- Faire une troisième attaque d'1 heure. En général après 3 traitements on obtient une cellulose blanche. Mais dans certains cas, pour des bois particulièrement difficiles, une quatrième attaque est nécessaire.
- Lors de la dernière filtration, amener sur le creuset filtrant toutes les fibres. Essorer à la trompe. Laver d'abord à l'alcool à 96° (50 ml) puis à l'alcool dilué à 50% environ (10 ml) puis à l'eau distillée jusqu'à disparition de toute trace d'acidité (papier pH).
- Essorer à la trompe puis remplir le creuset avec de l'alcool, essorer. Remplir à nouveau le creuset avec de l'éther, essorer et porter à l'étuve à 105°C pendant 2 à 3 heures maximum sinon on risque une caramélisation des sucres.
- Peser (M_2).

Calcul

M_E = masse de l'échantillon extrait à l'alcool-benzène
H_1 = % d'humidité de l'échantillon (notation décimale, ex.: .02 pour 2%)
M_1 = masse du creuset
M_2 = masse du creuset + cellulose

% cellulose par rapport au bois sec et extrait (C_1)

$$\% \text{ cellulose} = C_1 = \frac{(M_2 - M_1) \times 100}{M_E (1 - H_1)}$$

% cellulose par rapport au bois brut et sec (C_2)

$$C_2 = \frac{C_1 (100 - AB)}{100}$$

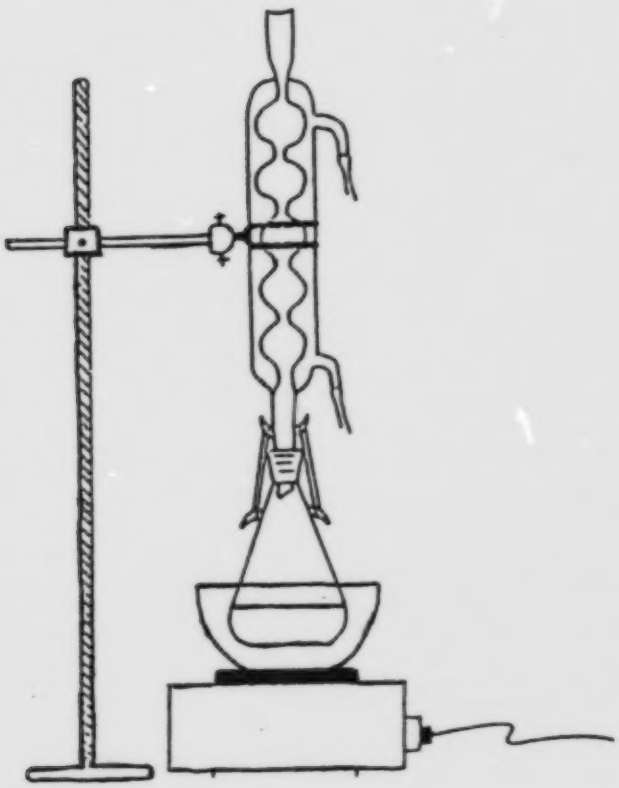
AB = % d'extrait

NOTE: Il arrive que la valeur de cellulose trouvée soit en excès. Ceci est dû aux hémicelluloses qui sont demeurées avec la cellulose. La correction sera apportée par le dosage des pentosans dans le résidu. Cette méthode est présentement en développement. La façon de calculer le % de cellulose corrigé (C_c) est la suivante.

$$C_c = C_1 - \frac{C_1 \times P}{100}$$

P = % de pentosans présents

SCHEMA DU MONTAGE POUR METHODE B-4



MÉTHODE #B-5

Détermination de la lignine insoluble en milieu acide

Principe et applicabilité

Lorsque le bois est traité par des acides forts, les sucres sont hydrolysés et solubilisés. Le résidu est mesuré gravimétriquement en tant que lignine.

Certains bois doivent être extraits avec des solvants avant l'analyse de la lignine afin d'enlever les extractibles insolubles dans l'acide et qui seraient mesurés en tant que lignine.

L'échantillon peut être extrait par les solvants suivants:

1) éthanol-benzène pour enlever les résines, les lipides et les cires;
2) éthanol pour enlever les tannins dérivés du cathécol;
3) eau chaude pour enlever les produits solubles dans l'eau.

L'extraction à l'éthanol n'est nécessaire que pour les bois à haute teneur en tannins (ex.: chêne, séquoia, châtaignes, etc.) et peut être omise dans les autres cas.

Il existe une série de différences entre les méthodes standards que l'on retrouve dans la littérature (1-4). Ces différences seront mentionnées dans le protocole expérimental.

Réactifs

1- Solution éthanol-benzène
   - mélanger un volume d'éthanol 95% et 2 volumes de benzène

2- Acide sulfurique 24.1 N (72%)
   - ajouter avec précaution 665 ml de H_2SO_4 concentrée (96%, d:1.84) à 300 ml d'eau distillée. Diluer à 1 litre, une fois refroidie

- standardiser la solution avec une solution standard de NaOH. Le méthyl orange peut servir d'indicateur. Ajuster la concentration d'acide à 24.1 N ± 0.1 N par addition d'eau ou de H_2SO_4 concentrée, si nécessaire.

Procédure

Extraction

- Extraire une quantité suffisante d'échantillons ayant une granulométrie inférieure à 0.5 mm par l'éthanol-benzène en suivant le protocole de la méthode #A-3a. Filtrer sur un Büchner et laver par succion avec de l'éthanol puis de l'eau.

- Le lavage à l'eau (4) consiste à couvrir l'échantillon dans le Büchner avec de l'eau (tiède) et laisser 10 min. sans succion. La succion est appliquée, l'eau est enlevée, l'échantillon est rincé et la succion est arrêtée de nouveau.
  Cette procédure est répétée deux autres fois et l'échantillon est séché à l'air.

Hydrolyse: Méthode 1

Hydrolyse primaire

Peser précisément 2 échantillons d'environ 1 gramme et déterminer le % d'humidité (voir méthode #A-1).

Peser précisément deux autres échantillons (ça peut être les mêmes) d'environ 1 gramme dans deux erlenmeyer de 50 ml.

Ajouter lentement à l'échantillon 15 ml de H_2SO_4 24.1 N frais (15°C).

Mélanger 1 minute en s'assurant d'écraser les fibres.

Laisser 2 heures à 20°C en agitant fréquemment.

Hydrolyse secondaire

Diluer dans un erlenmeyer de 1 litre avec 560 ml d'eau distillée. La concentration est maintenant de 3% w/w ou 0.62 N. Faire bouillir sous reflux pendant 4 heures.

Hydrolyse: Méthode 2

Hydrolyse primaire

Peser précisément 2 échantillons extraits d'environ 0.3 g dont l'humidité est connue dans deux vials fermés.

Ajouter 1 ml de H_2SO_4 24.1 N par 0.1 g d'échantillon.

Placer les vials dans un bain à 30°C.

Laisser 3 minutes puis agiter vigoureusement.

Laisser à 30°C pendant une heure en agitant fréquemment.

Hydrolyse secondaire

Transférer les échantillons dans deux erlenmeyers de 250 ml et diluer en ajoutant 28 ml d'eau distillée par millilitre de H_2SO_4 24.1 N employé. La concentration est maintenant de 4% w/w ou 0.82 N. Couvrir avec un verre de montre. L'hydrolyse secondaire est effectué dans un autoclave préalablement chauffé à 95°C.

Placer l'échantillon dans l'autoclave et maintenir la température entre 120°C et 130°C pour 1 heure.

Filtration du résidu insoluble

- Laisser le matériel insoluble décanter puis filtrer sur un verre fritté taré en gardant l'échantillon chaud.

- Laver les échantillons avec de l'eau chaude.

- Sécher à 105°C pour 2 heures.

- Refroidir et peser.

Calcul

% de lignine par rapport au bois extrait

$$\% \text{ lignine}_{EXT} = \frac{m}{M} \times 100$$

% lignine par rapport au bois initial

$$\% \text{ lignine}_{INIT} = \frac{\% \text{ lignine}_{EXT} \ (100 - EXT)}{100}$$

m = masse de lignine pesée
M = masse de l'échantillon de départ sec: $M = \frac{mE \ (100 - \text{humidité})}{100}$
mM = masse de l'échantillon pesé
EXT = % d'extrait à l'éthanol benzène

Sécurité

- Porter gants et lunette en présence de H_2SO_4.

- S'assurer de connaître le fonctionnement de l'autoclave.

Références

1) Klason, P., Cellulosechemie, 4 (1923), 81.

2) Tappi Standard T-13, 1954.

3) ANSI/ASTM D 1106-56.

4) Moore, W.E., Johnson, D.B., Procedures for the chemical analysis of wood and wood products. U.S. Forest Products Laboratory, 1967, #67-026 et 67-027.

MÉTHODE #B-6

Détermination du degré de polymérisation moyen de la cellulose par la méthode de la viscosité intrinsèque

Principe et applicabilité

A) Viscosité

Il existe plusieurs représentations de la viscosité

1) Viscosité relative

$$\eta_r = \eta/\eta_o \text{ ou } t/t_o$$

- η et η_o sont respectivement les viscosités de la solution et du solvant
- si les temps d'écoulements sont suffisamment élevés pour un viscomètre donné (> 100 sec), les corrections d'énergie cinétique sont négligeables et le rapport $t/t_o = \eta_r$

2) Viscosité spécifique

$$\eta_{sp} = (\eta - \eta_o)/\eta_o = \eta_r - 1$$

3) Viscosité intrinsèque

Il s'agit de l'extrapolation de la viscosité à dilution infinie ($c \to o$)

$$[\eta] = \lim_{c \to o} [\eta_{sp}/c]$$

c = concentration g/dl

B) Relation avec la concentration

L'équation de Martin

$$\log \eta_{sp}/c = \log [\eta] + k [\eta] + k[\eta]c$$

nous est très utile puisqu'un graphique du log η_{sp}/c en fonction de c nous donnera un intercept à c=o de log[η].

C) Relation avec le degré de polymérisation

L'équation de Mark-Houwink

$$[\eta] = k' M^a$$

permet de relier le poids moléculaire à la viscosité. k' et a étant des constantes dépendantes de la nature du polymère et du solvant.

En ce qui concerne la méthode décrite ci-après, une approximation suffisante du degré de polymérisation est calculée par:

$$DP = [\eta] \times 190$$

NOTE: Cette méthode est adéquate pour la cellulose. Les résidus contenant de la lignine ou des hémicelluloses indiqueront des valeurs inférieures à la réalité.

Réactifs et équipements (le montage est au 243)

- Solution d'hydroxyde de cupriéthylènediamine 1.000 ± 0.012 M (CED)
  (Fournisseur: Anachemia AC-2683)
  NOTE: - le CED doit toujours être conservé à la noirceur
  - porter gants et lunette car le CED est corrosif
- Acétone
- Viscosimètre Cannon-Fenske (size 100 ou 75)
- Bain d'eau thermostaté a 25.0 ± 0.1°C
- Erlenmeyer de 50 ml
- Büchner, flacon à vide, bouchon de caoutchouc, agitateur
- Source d'azote
- Chronomètre précis à 0.1 seconde

Procédure

- Moudre l'échantillon et tamiser (60 mesh, 250 µm)
- Peser précisément 3 quantités de cellulose sèche d'environ 10, 20 et 30 mg
- Mettre l'échantillon dans un erlenmeyer de 50 ml et ajouter 10 ml d'eau distillée
- Chasser l'air avec un courant d'azote et ajouter 10 ml de la solution de CED en maintenant le courant d'azote
- Bien fermer l'erlenmeyer
- Agiter pendant 7 minutes
- Si non-dissous agiter de nouveau pendant 10 minutes
- Si non-dissous, filtrer sous vide dans un büchner
- Transférer 7 ml dans un viscosimètre déjà équilibré à la température du bain et purgé à l'azote. Attendre 5 minutes (commencer la dissolution de la deuxième solution si désiré)
- Aspirer la solution jusqu'au dessus de la marque supérieure
- Mesurer le temps d'écoulement entre les deux marques
- Faire trois mesures ayant une différence inférieure à 1 seconde
- Vous devez avoir mesuré le temps d'écoulement du solvant (10 ml H_2O + 10 ml CED) selon la même procédure

NOTE: le viscosimètre (size 100) est utilisé de routine et le "size 75" pour les celluloses très dépolymérisées (< 200)

Nettoyage du viscosimètre

- Tremper dans l'acide nitrique 50% tiède
- Rincer avec eau distillée
- Rincer avec de l'acétone
- Assécher

Calcul

Vous pouvez utiliser les feuilles standards (voir exemple en annexe) pour effectuer les calculs (demander à S. Nguyen).

A) Viscosité spécifique $\eta_{sp} = \frac{t - t_o}{t}$

- Faire le graphe log η_{sp}/c vs c et l'intercept à c=o est $[\eta]$
  ou
- Faire la régression linéaire (logiciel statistique). Ceci permet plus de précisions ainsi que l'obtention des paramètres statistiques.

B) DP = $[\eta]$ x 190

Références

- Tappi T-230.SU-63
- Norme Française T-12-005 (1953)
- B. Browning, Methods in wood chemistry, Vol. II (1967), ch. 25, p. 519-557.

DETERMINATION DE LA VISCOSITE INTRINSEQUE

DE LA CELLULOSE

METHODE : TAPPI T 230 SU-63

C.E.D.: CUPRIETHYLENE DIAMINE : $(Cu(en)_2)^{2+}$ $2(Cu(C_6H_7O_5))$

ECHANTILLON : _____

VISCOMETRE	NUMERO	SIZE	FACTEUR
	X-741	100	0.01550

THERMOSTAT REGLE A :
25 + 0.1 °C

LE TEMPS D'ECOULEMENT DU SOLVANT : secondes					MOYEN

EXPERIENCE	1	2	3	4
La Concentration				
Le Temps d'ecoulement de la Solution				
MOYEN				
La Viscosité relative				
La Viscosité spécifique				
La Viscosité concentration				
Logarithme de la V.C.				

DATE: _____ PAR:

DATE: _____

LE TEMPS D'ECOULEMENT DU SOLVENT: _____ Secondes

THERMOSTAT REGLE A : 25 ± 0.25°C

VISCOMETRE: NUMERO : _____; SIZE : _____; FACTEUR : _____

Analyse statistique

ECHANTILLON	Concentration	Temps	$\log(n_{sp}/c)$	Intercept	n	DP	Pente	r^2

MÉTHODE #B-7

Mesure de l'indice de cristallinité de la cellulose par diffraction des rayons-X

But et applicabilité

Le spectre de diffraction de la cellulose entre 10° et 30° d'angle montre différents pics de diffraction. Le plus intense (22.6°) est causé par la structure cristalline de la cellulose et la ligne de bruit de fond est causée par la portion amorphe. Plusieurs méthodes de mesure sont proposées dans la littérature mais la plus employée semble être celle de Ségal et al (2). Cette méthode est cependant de plus en plus remise en question mais elle permet, au moins, de déterminer un indice d'ordre dans le bois et les résidus.

Instrumentation

L'instrument du Département de physique est un Philips XRA-4 avec une source de cuivre de type PW 2233/20 et une raie dont le $k\alpha$ est à 1.5405 A. Le filament a un potentiel de 40 kV et un courant de 16 mA.

Protocole

La méthode des poudres est utilisée pour la diffraction des rayons-X. La technique est simple. Elle consiste à couper des lamelles de microscope à une longueur de 25 mm. La moitié de cete plaque est recouverte de graisse de silicone. Le solide à analyser est concentré sur une petite portion d'un centimètre carré de la partie recouverte de graisse. Environ .003 g de solides sont nécessaires pour obtenir le spectre.

Le spectre de diffraction est alors enregistré entre 10 et 30° d'angle avec une vitesse de balayage fixée à 1° d'angle par minute. Le spectre obtenu montre donc une intensité de signal en fonction de l'angle 2 θ.

Sécurité

Les utilisateurs doivent avoir une connaissance des risques inhérents à la manipulation de rayons-X.

Calcul

L'intensité relative est mesurée à deux angles bien précis:

$I_{(002)}$ = intensité de diffraction du plan (002) à $2\theta = 22.6°$
I_{AM} = le bruit de fond à $2\theta = 18°$

L'estimation du degré de cristallinité (CrI) est ensuite calculée:

$$CrI = 100\ [(I_{002} - I_{AM})/(I_{002})]$$

Références

1) B. Browning, Methods in wood chemistry, Vol. II (1967), p. 499-502.

2) L. Ségal et al, Textile res. J., 29 (1959), 786.

MÉTHODE #B-8

Détermination des substances humiques dans la tourbe

Principe et applicabilité

Cette méthode chimique fait appel aux divers comportements en solubilité de la matière organique présente dans la tourbe. Nous verrons ainsi trois (3) classes de composés, soit les acides humiques, solubles dans les solutions alcalines (pH > 7), mais insolubles dans les solutions acides (pH < 1.5), les acides fulviques, solubles et dans les bases et dans les acides, et finalement, les humines, insolubles pour tout pH.

L'échantillon de tourbe est extrait dans une solution de soude sous atmosphère inerte. La solution ainsi produite est recueillie et acidifiée à pH acide. Les acides humiques floculent et précipitent. Chacune des fractions est séchée et on en détermine la teneur en cendres. Tous les résultats sont exprimés en pourcentage de la matière organique présente initialement.

Réactifs

Azote
Hydroxyde de sodium, NaOH, N/10
Acide chlorhydrique, HCl, 1.0 N

Procédure

(1) Peser précisément l'échantillon dans une bouteille de plastique de 50 ml. Ajouter 20 ml de NaOH. Barbotter N_2. Agiter pendant 24 heures.

(2) Centrifuger le mélange afin de séparer la matière organique soluble de la matière organique insoluble. Décanter et conserver la solution extraite. Laver le résidu deux (2) fois avec des portions de 20 ml d'eau distillée. Agiter afin de bien laver, centrifuger 15 minutes à 2500 rpm, et conserver les surnageants.

(3) Ajuster le pH des surnageants à 1.5 avec HCl. Laisser déposer les acides humiques pendant 24 heures.

(4) Séparer le précipité de la solution par centrifugation.

(5) Sécher chacune des fractions recueillies, d'abord sur bain de vapeur, puis à l'étuve (105°C). Déterminer les cendres de chaque fraction.

Calculs

Les calculs effectués sont présentés en annexe sous forme d'un rapport d'analyse contenant les données enregistrées au laboratoire et d'une feuille standardisée pour le calcul des % d'acides humiques et fulviques.

Sécurité

(1) Utilisation de la centrifugeuse: toujours s'assurer que la répartition de poids dû aux éprouvettes est symétrique.

(2) Utilisation du four pour déterminer les cendres: suivre à la lettre la procédure établie par le Département de génie chimique quant à l'utilisation de cet équipement.

(3) Manipulation de produits chimiques: quoique peu probables, des éclaboussures sont à craindre lors du barbottage d'azote. Le port des gants et lunettes est de rigueur. La tourbe, réduite en poudre, peut s'avérer un irritant de la peau et des yeux. Le port de gants et lunettes est aussi recommandé lors de sa manipulation.

Références

(1) Anon. (1979), Peat testing manual, NRCC technical memorandum, No. 125, 193 p.

RAPPORT D'ANALYSE

DÉTERMINATION DES SUBSTANCES HUMIQUES DANS LA TOURBE

ÉCHANTILLON: DATE:

POIDS DE TOURBE	:	g
ACIDE HUMIQUES		
Poids de creuset vide	:	g
Poids de creuset + acides humiques séchés	:	g
Poids acides humiques (W)	:	g
Poids de creuset vide	:	g
Poids de creuset + acides humiques séchés	:	g
Poids acides humiques (W_1)	:	g
Poids de creuset + cendres à 550°C	:	g
Poids des cendres (W_2)	:	g
Pourcentage de cendres = $100*(W_1/W_2 0$	:	%
ACIDES FULVIQUES		
Poids de creuset vide	:	g
Poids de creuset + acides fulviques séchés	:	g
Poids acides fulviques (W)	:	g
Poids de creuset vide	:	g
Poids de creuset + acides fulviques séchés	:	g
Poids acides fulviques (W_1)	:	g
Poids de creuset + cendres à 550°C	:	g
Poids des cendres (W_2)	:	g
Pourcentage de cendres = $100*(W_1/W_2)$	:	%

CALCUL

$$\% \text{ ACIDE} = \frac{m}{M} 100$$

m: masse d'acide libre de cendres

M: masse d'échantillon libre d'humidité et libre de cendres

$$m = \frac{W\ (100 - C_1)}{100}$$

W: masse d'acide

C_1: % cendre d'acide

$$M = \frac{mE\ (100 - H)}{100} \times \frac{(100 - C_2)}{100}$$

mE: masse d'échantillon initiale

H: % humidité d'échantillon initiale

C_2: % cendre d'échantillon initial

$$\% \text{ ACIDE} = \frac{\frac{W(100 - C_1)}{100}}{mE \frac{(100-H)}{100} \times \frac{(100-C_2)}{100}} \times 100$$

	% ACIDES HUMIQUES
W:	g
C_1:	%
H:	%
C_2:	%
mE:	g
% A: ☐	%

	% ACIDES FULVIQUES
W:	g
C_1:	%
H:	%
C_2:	%
mE:	g
% A: ☐	%

Section C

Analyse des macromolécules en solution

MÉTHODE #C-1

Opération du système HPLC dédié à la chromatographie d'exclusion (SEC) en milieu aqueux

Principe et applicabilité

La chromatographie d'exclusion est une méthode couramment utilisée pour la caractérisation et la détermination des poids moléculaires des macromolécules solubles. Bien que l'aspect théorique général soit simple, il existe un nombre important de considérations théoriques et pratiques dont il faut tenir compte. Les plus importantes sont:

- effet de solvatation
- effet de concentration
- structure tridimensionnelle des polymères
- interaction gel-polymère
- effet ionique (exclusion, inclusion, équilibre de Donnan)

Cette technique (groupe III) nécessite une formation technique adéquate mais, si le but de l'analyse est une étude fondamentale, ceci nécessite une formation théorique. La bibliographie du 509 est passablement complète sur ces différents concepts.

Système HPLC-SEC

- Pompe Beckman 100A
- Contrôleur Beckman 421
- Réfractomètre différentiel Altex 156
- Injecteur Rhéodyne 9125
- Colonne TSK-PW G-4000 7.5 x 600 mm (Toyo-Soda)
- Colonne de garde (7.5 x 75 mm)

Procédure

A) Préparation de l'échantillon

L'échantillon à injecter doit être filtré sur une membrane de 0.45 μ ou plus petit (0.22 μ). Il ne doit pas contenir de grandes quantités de solvant organique et doit avoir un taux de fer plus petit que 20 ppm. (Voir méthode #A-6 pour dosage et #A-7 pour élimination).
Un volume préparé de 1 ml est amplement suffisant pour trois injections.
Conserver les échantillons au réfrigérateur et à l'abris de la lumière.

NOTE: Les colonnes TSK-PW sont dédiées aux polysaccharides. Les composés aromatiques sont absorbés irréversiblement sur ce gel. Il faut donc analyser que des échantillons exempts de lignine.

B) Préparation de l'éluant

Le solvant utilisé est de l'eau (H_2O) de qualité HPLC (disponible au Département de chimie) contenant 0.02% en poids de nitrure de sodium (Sodium Azide, NaN_3).
Ce dernier est utilisé pour empêcher la croissance microbienne à l'intérieur de la colonne.

- Dans 1000 ml d'eau HPLC, ajouter 200 mg d'azoture de sodium
- Filtrer cette solution sur filtre 0.45 μ (système Millipore)
- Placer ensuite la bouteille contenant cette solution dans un bain ultrason pendant une dizaine de minutes (dégazage).

C) Raccordement du solvant à la pompe Beckman

- Connecter ensuite le réservoir de solvant au raccordement en teflon de la pompe utilisée (A ou B)

- S'assurer qu'il n'y a pas de bulles d'air dans les tubes (purger* si nécessaire).
- Dégazer constamment la solution en plongeant un barbotteur ayant un débit d'hélium (ou d'azote) d'environ une bulle par seconde.

* Pour purger, ouvrir la vanne de purge de la pompe. Faire couler au moins 5 ml de solvant par cette vanne. Arrêter la pompe et fermer la vanne.

D) Fonctions pour l'analyse

Les conditions d'analyses actuelles sont:

débit du solvant: 0.4 ml/min
pression moyenne à la pompe: 90 psi
volume d'injection: 10 µl

Ajuster le débit à la valeur requise en utilisant le mode de programmation Beckman (écran cathodique).
Il ne faut jamais changer le débit de façon brusque. La norme acceptable est une vitesse de variation du débit de 0.1 ml/0.1 minute.
Laisser stabiliser environ 30 minutes le système en s'assurant que le solvant circule librement dans tout le système analytique. Il ne doit pas y avoir de bulles d'air visibles et la pression doit rester relativement stable.
Vérifier également la pression maximale utilisée pour le type de colonne. Ajuster la pression maximale (sur le contrôle manuel de la pompe) à 120 psi.

C) Réfractomètre différentiel

Ce type de détecteur est très fragile et très sensible aux fluctuations de température.

- Toujours s'assurer que le détecteur <u>ne soit pas bouché</u> quand le solvant circule dans le système. (La cellule du détecteur risque de se rompre si la pression au détecteur est <u>plus grande que 50 psi</u>).

- Porter une grande attention et consulter au préalable le manuel d'instruction pour le détecteur IR (Altex).
- Normalement le zéro du détecteur est déjà ajusté et vous n'avez qu'à faire un ajustement fin.

F) Vérifications pré-analytiques

En résumé, vérifier les points suivants:

- Pas de bulles d'air dans le système analytique.
- Liquide de refroidissement circulant dans le bain thermostaté (20°C).
- Fuites de solvant dans le système.
- Détecteur et injecteur en état de fonctionner.
- Pression normale.
- Ligne de base stable.

Si toutes les vérifications sont positives, faire un test de ligne de base avec l'intégrateur.

- En ayant toutes les conditions analytiques en état de fonctionner, ne rien injecter et appuyer sur la touche "PLOT" de l'intégrateur.
  Une ligne de base stable indique des conditions analytiques acceptables.

G) Colonne et pré-colonne

En utilisation normale, la colonne analytique demande peu ou pas d'entretien. Seule la pré-colonne doit être regénérée après 200 ou 250 injections. Cette regénération est assurée par le technicien et c'est pour cela que chaque injection doit être indiquée dans le cahier d'utilisateurs.

H) Injection et analyse

Conditions actuelles sur l'intégrateur HP 3392A:

Zéro:	15
Chart Speed:	0.1 cm/min
Attenuation:	4
Peak width:	0.64
Threshold:	3

Durée de l'analyse: 65 minutes

L'injecteur en position LOAD, injecter la solution à l'aide d'une seringue Rhéodyne 710 SNR de 100 µl en prenant soin de rincer l'injecteur deux ou trois fois avec la solution et de ne pas introduire d'air dans l'injecteur. Demander au technicien sur quel fichier se trouve la programmation du chromatographe.
Simultanément, tourner la poignée de l'injecteur à la position "INJECT" (vers la droite), appuyer sur la touche "STORE/EXECUTE" du programmeur et sur la touche "START" de l'intégrateur.

Interprétation et calcul

Il est possible d'utiliser les résultats de façon qualitative seulement. Pour suivre une hydrolyse ou vérifier la présence de macromolécules en solution.

A ce moment, les temps de rétention serviront de repères pour une diminution des poids moléculaires par exemple. Il ne suffit à ce moment que de connaître les paramètres importants:

- Volume mort (Vm): 11.64 ml ou 29.1 min.
- Volume du glucose: 21.4 ml ou 53.5 min.
- Volume total (Vt): 23.4 ml ou 58.5 min.

Si on désire calculer un poids moléculaire, il faut calculer le k_{AV} de l'échantillon et calculer le poids molcélaire en équivalent dextran qui lui correspond. Avec le système que nous avons, il est possible de le faire pour des molécules de 6,000 à 200,000.

$$K_{AV} = \frac{V_e - V_M}{V_t - V_m}$$

V_e = volume d'élution du sommet du pic
V_M = 11.64
V_t = 23.4

$$\log PM = 5.94 - 3.31\ kav$$

L'estimation du poids moléculaire que nous faisons est partielle, il faudrait idéalement calculer le coefficient de polydispersité à l'aide d'un système de traitement de données plus sophistiqué.

Section D

Analyse des oligomères et monomères

MÉTHODE #D-1

Analyse des monosaccharides par HPLC

Principe et applicabilité

Il est possible de séparer sur une résine échangeuse d'anions dont l'agent actif est le plomb, les monosaccharides sans avoir besoin de dériver et en utilisant l'eau comme solvant. La plupart de nos échantillons en phase aqueuse peuvent être analysés de cette façon. Il faut cependant éviter les solutions contenant des ions puisqu'ils empoisonneront le système de garde de la colonne.

Le principe de séparation va dans le sens polysaccharide → monosaccharide. Il est possible de quantifier les monosaccharides, les disaccharides et d'avoir une photo du contenu en "DP2 et plus". Certains autres produits sont aussi identifiables et quantifiables. La quantification se fait par la technique de standard interne (mannitol). Ce système HPLC est délicat et doit être manipulé avec soin. Il est important de posséder la formation adéquate et de respecter les directives de sécurité (technique du groupe III).

Système HPLC-monosaccharides

- Pompe Gilson #302
- Régulateur de pulse Gilson #802B
- Réfractomètre Gilson #131
- Injecteur Rhéodyne 9125
- Chauffe-colonne BioRad
- Système de garde: BioRad 125-0119 (échangeuses cationique et anionique)

Conditions analytiques

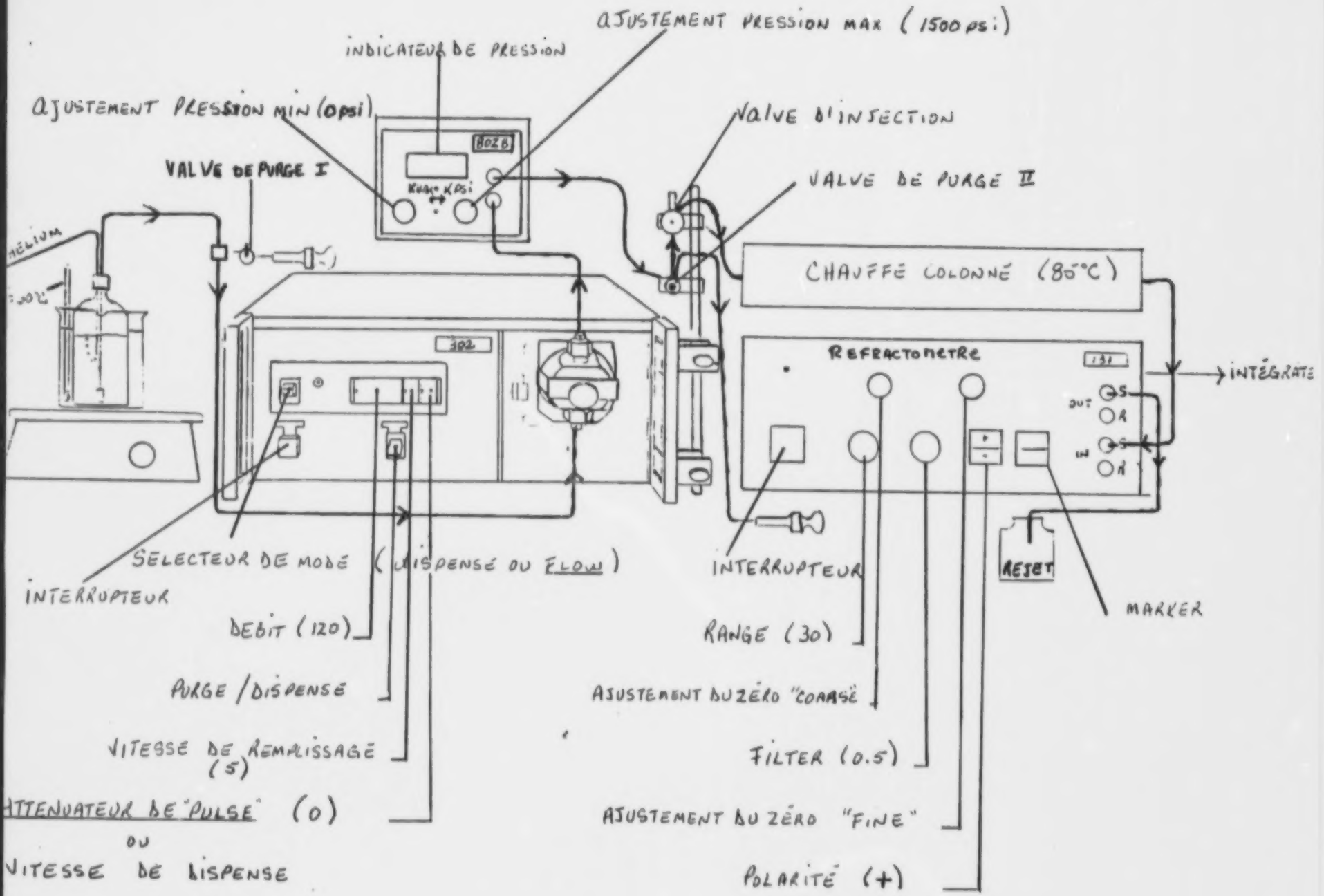
Eluant: H_2O
T° éluant: 60°C
Dégazant: hélium
Débit: 0.6 ml/min.
Volume d'injection: 20 µl
T° colonne: 85°C
Standard interne: mannitol

Condition d'intégration

Intégrateur: HP 3392A
Zéro: 30%
Chart speed: 0.5 cm/min.
Peak width: 0.4
Threshold: 4
Area reject: 1000
Fonction d'intégration: #5

Mise en marche du système

- Allumer le bain thermostaté réglant la température de l'indice de réfraction (20°C)
- Vérifier la quantité d'éluant et préparer au besoin (voir préparation de l'éluant)
- Allumer la plaque chauffante sous le bain d'eau contenant l'éluant
- Régler la température du bain à 60°C
- Vérifier que l'hélium circule bien dans l'éluant (débit = 1 bulle/ seconde)
- Purger le tube reliant l'éluant à la pompe (voir schéma, valve de purge I)
- Purger le tube reliant la pompe à l'injecteur en ouvrant la "valve de purge II" d'un tour complet et aspirer le solvant par la seringue
- Fermer la "valve de purge II" (1 tour complet)
- Ajuster le débit de la pompe à 0.1 ml/min. (débit à 020)
- Allumer la pompe (tous les autres contrôles sont constants, voir le schéma pour en vérifier l'exactitude)
- Allumer l'indice de réfraction (tous les autres contrôles sont constants, voir le schéma pour en vérifier l'exactitude). Toujours s'assurer que le détecteur ne soit pas bouché lorsque le solvant circule dans le système. (Une pression > 50 psi fera éclater la cellule)
- Laisser circuler l'éluant 15 minutes
- Allumer le chauffe-colonne dont la température est ajustée à 85°C
- Lorsque la colonne a atteint 85°C, l'indicateur du chauffe-colonne, clignote. Ajuster alors le débit de la pompe à 0.6 ml/min. (120)


AJUSTEMENT PRESSION MAX (1500 psi)
INDICATEUR DE PRESSION
AJUSTEMENT PRESSION MIN (0psi)
VALVE D'INJECTION
VALVE DE PURGE I
VALVE DE PURGE II
CHAUFFE COLONNE (80°C)
REFRACTOMETRE
INTÉGRATEUR
SELECTEUR DE MODE (DISPENSE OU FLOW)
INTERRUPTEUR
INTERRUPTEUR
RESET
MARKER
DEBIT (120)
RANGE (30)
PURGE / DISPENSE
AJUSTEMENT DU ZÉRO "GROSSE"
VITESSE DE REMPLISSAGE (5)
FILTER (0.5)
ATTENUATEUR DE "PULSE" (0)
AJUSTEMENT DU ZÉRO "FINE"
OU
VITESSE DE DISPENSE
POLARITÉ (+)

- La pression ne doit pas dépasser 1200 psi
- Ajuster le zéro (0.00 ± 0.10) du réfractomètre
- Faire un "plot" d'environ 30 minutes
- Lorsque la ligne de base est stable, l'appareil est en fonction

Procédure

A) Préparation de l'éluant
- Le solvant utilisé est de l'eau de qualité HPLC (disponible au Département de chimie)
- Filtrer environ 1 litre d'eau sur le système millipore, avec un filtre 0.45 µm de 47 mm de diamètre
- Dégazer ensuite en plaçant au bain à ultra-sons pendant environ 15 min.
- Incorporer au système
- Faire circuler l'hélium et chauffer à 60°C

B) Préparation de l'échantillon
- Prélever une quantité précise d'échantillon. S'il s'agit d'un hydrolysat, vérifier sa concentration en $Fe^{+2/+3}$ (voir méthode #A-6). Si la concentration est supérieure à 20 ppm, enlever les cations de cet échantillon par la méthode #A-7
- Faire les dilutions appropriées (avec de l'eau HPLC)
- Ajouter le standard interne selon la quantité prévue de glucose (ex.: glucose = 5 mg/ml → mannitol 4.24 mg/ml)
- Filtrer l'échantillon sur un filtre 0.45 µm (25 mm diam.)
- Un volume de 1 ml est amplement suffisant pour une analyse
- Conserver les échantillons au réfrigérateur et à l'abri de la lumière

C) Vérifications pré-analytiques
- Pas de bulles d'air dans le système
- Liquide de refroidissement circulant dans le bain thermostaté
- Pas de fuites par les connections
- Pression normale
- Ligue de base stable

NOTE: La colonne analytique est très dispendieuse mais il est possible de la regénérer quelque fois. Les colonnes de garde doivent être changées après un certain nombre d'injections; c'est pourquoi il est essentiel que chaque injection soit notée dans le cahier d'utilisation.

D) Analyse

- Rincer la seringue (Rhéodyne 710 SNR) avec de l'eau HPLC 2 ou 3 fois
- Rincer la boucle d'injection de la même façon
- Rincer la seringue et la boucle d'injection simultanément avec l'échantillon, en prenant soin de ne pas injecter de bulle d'air (2 ou 3 fois)
- Laisser la seringue dans l'injecteur
- Simultanément, mettre la valve d'injection en position "inject" et peser sur "start" de l'intégrateur
- Lorsque le chromatogramme est terminé, si l'intégration est en fonction des surfaces, peser sur "Op 4 enter Area %" pour obtenir l'intégration par les hauteurs. Au contraire, si la première intégration est en fonction des hauteurs, peser sur "Op-4 enter Area %" pour obtenir l'intégration des surfaces

E) Arrêt de l'appareil

- Ajuster le débit de la pompe à 0.1 ml/min. (020)
- Eteindre le chauffe-colonne
- Eteindre la plaque chauffante sous le bain d'eau
- Eteindre le détecteur
- Laisser circuler l'éluant entre 15 et 30 minutes
- Eteindre la pompe
- Pour les week-ends, éteindre le bain thermostaté

Calcul

Le calcul des concentrations est effectué automatiquement par l'intégrateur s'il possède l'information sur la concentration de mannitol (voir L. Bedford pour procédure).

L'intégrateur vous donnera la concentration des sucres en mg/ml dans l'échantillon. Il peut également vous calculer la concentration de départ s'il possède les facteurs de dilutions.

Vous trouverez en annexe une liste de composés avec leurs temps de rétention ainsi qu'un exemple de séparation.

Sécurité

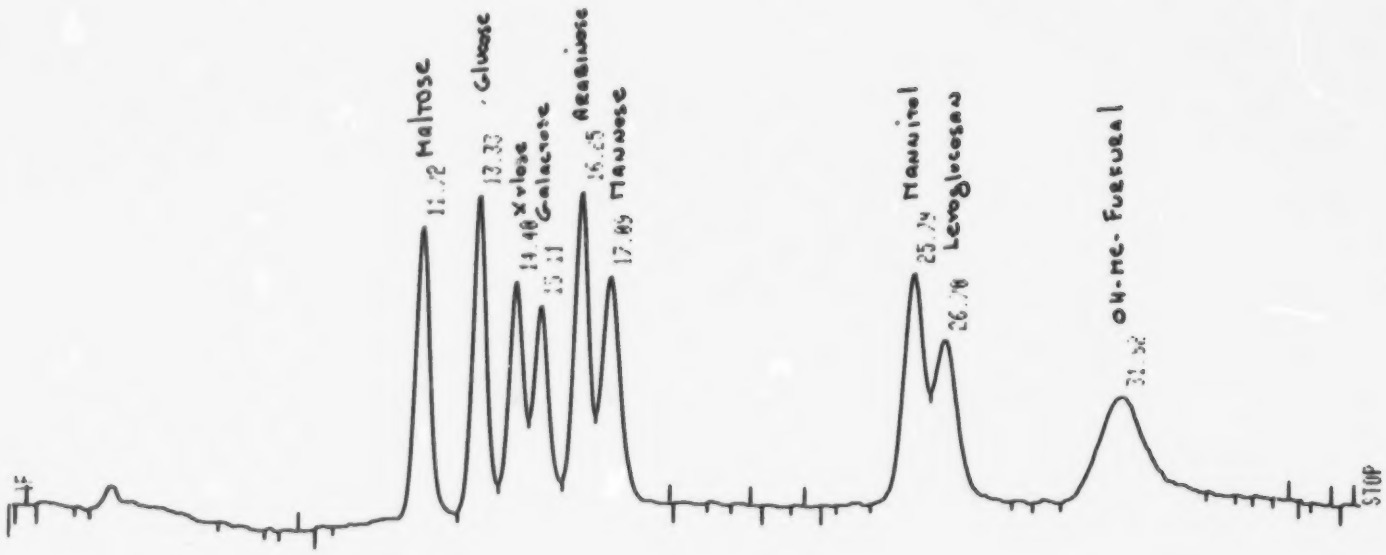
- Ne jamais arrêter la pompe (débit) lorsque la colonne chauffe à haute température
- Ne pas injecter de solutions contenant des sels
- Ne jamais modifier la température du chauffe-colonne
- Ne pas injecter de solutions contenant un autre solvant que l'eau
- toujours utiliser de l'eau HPLC et rien d'autre
- toujours filtrer ses échantillons avant de les injecter
- Pour consulter les manuels de l'appareil, la littérature concernant la colonne ou pour d'autres informations, contacter L. Bedford

Liste des temps de rétention

	Mélézitose	9.2
	Raffinose	9.8
	Cellobiose	10.4
	Sucrose	10.4
*	Maltose	11.72
	Mélibiose	12.0
*	Glucose	13.3
*	Xylose	14.4
*	Galactose	15.1
	Sorbose	15.1
	Rhamnose	15.9
	Fucose	16.1
*	Arabinose	16.3
*	Mannose	17.1
	Lyxose	17.2
	Ethylène glycol	18.6
	Glycérol	18.5
	Fructose	18.8
*	Mannitol	25.8
*	Lévoglucosane	26.7
*	Hydroxy-méthyl-furfural	31.8
	Xylitol	33.9
	Ribose	49.0
	Sorbitol	49.5
	Inositol	50.0
	Furfural	50.0

* Quantifiables présentement

MONOSACCHARIDES STANDARDS HPLC (D-1)



MÉTHODE #D-2

Dosage des monosaccharides silylés par chromatographie gazeuse capillaire (wide-bore)

Principe et applicabilité

Il est possible en silylant (sucre $-\overset{\overset{CH_3}{|}}{\underset{\underset{CH_3}{|}}{Si}}-CH_3$) les monosaccharides de les rendre suffisamment volatils pour pouvoir les séparer en chromatographie gazeuse. La séparation s'effectue sur une colonne capillaire de 0.53 mm x 10 m dont l'intérieur est enrobé d'une couche de 1 µm de méthyl silicone (OV-101, polarité moyenne). La quantification se fait en utilisant le sorbitol comme standard interne. Le défaut de la silylation est que les 2 anomères d'un sucre seront séparés.

Par cette méthode, il est possible de quantifier les 5 principaux monosaccharides du bois et les huit principaux des tourbes.

Note 1: Pour obtenir les monosaccharides totaux d'un échantillon, il faudra procéder à une hydrolyse acide préalablement (voir méthodes #A-4 et #A-5).

Note 2: La manipulation du chromatographe nécessite une formation adéquate et un certain temps de pratique (groupe III). La silylation nécessite une formation de base (groupe II).

Protocole

A) Silylation

1- Ajouter au ballon contenant environ 350 mg de résidu sec, 1.0 ml de standard interne (5 mg/ml de sorbitol dissout dans la pyridine).

2- Ajouter 2 ml de TSIM (triméthyl silylimidazole) pour un résidu et selon le poids pour un filtrat:
   15 mg de sucre: 0.5 ml de TSIM
3- Agiter pendant 30 minutes en maintenant le ballon sous atmosphère d'azote.
4- Transférer dans une fiole pour l'injecteur automatique du HP 5880, en prenant soin de bien l'emplir et de bien sceller le bouchon afin qu'il n'y ait pas d'air à l'intérieur.

Conditions d'analyses pour le HP-5880

Le système d'analyse fonctionne avec un injecteur automatique et toute l'analyse est automatisée. Une fois que les échantillons sont sur le chariot de l'injecteur, il n'y a qu'à partir l'autoséquence qui contient toutes les conditions d'analyses tel que mentionnées ci-après:

Chromatographe: HP 5880
Détecteur: B, FID
Flamme: - Hydrogène: Pression à la bouteille: 60 psi
Débit: 30 à 40 ml/min
- Air: Pression à la bouteille: 25 psi
Débit 40 ml/min
Gas porteur: Hélium: Pression à la bouteille: 60 psi
Débit: 8 à 10 ml/min
Colonne: Méthyl silicone (semblable à OV-1), 0.53 mm x 10 m
(HP Série 530 columns)
Température d'injection: 200°C
Température du détecteur: 250°C
Température initiale du four: 100°C
Programmation de température: 100-115°c, 5°C/min; 115-250°C, 3°C/min
Température finale du four: 250°C
Temps à la température finale: 60 min.

Run table:	Temps	Fonction
	0.00	Atténuation 4
	0.01	Threshold 2
	0.02	Peak Width 0.04
	0.03	Chart speed 0.75
	50.00	STOP

(Run table annotation off)

Report table:	Temps	Fonction
	0.00	Block mode #1

(Report annotation on)

% Offset: 10

Auto sequence:

1- Position: Front (1)
2- # pre Washes: 5
3- # Pumps: 5
4- Stop#: 1
5- # inj/btl: 1
6- First sample: 1
7- Last sample: X
8- Post btl: 36
9- # post wash: 5

Résultats et calculs

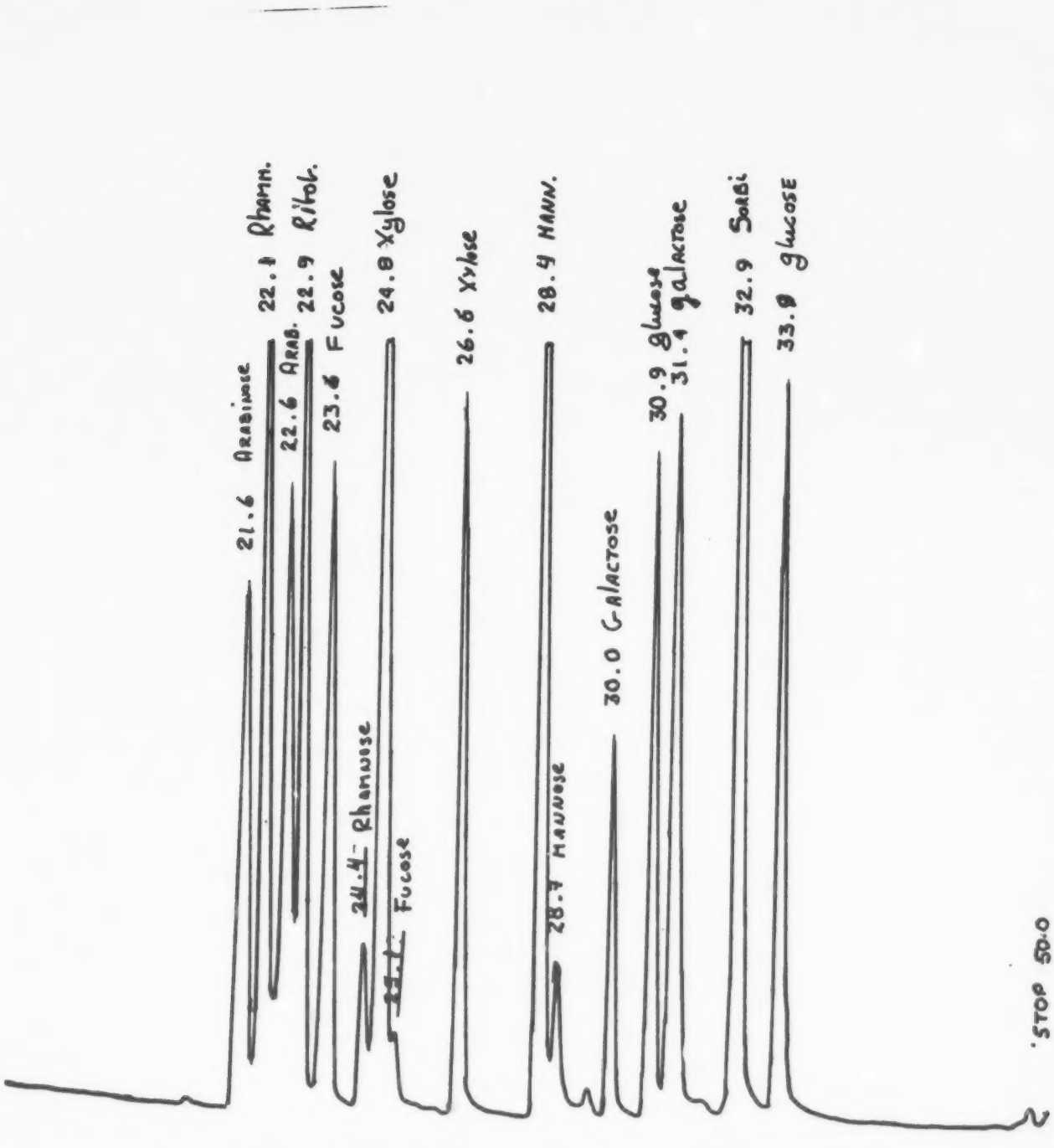
Un chromatogramme des huits sucres possiblement présents dans la biomasse est représenté à la Figure 1. Pour le calcul des concentrations, il faut utiliser les feuilles préparées par L. Bedford qui contiennent les facteurs de correction mis à jour régulièrement.,

La formule générale est la suivante:

Nombre de mg d'un sucre =

$$\frac{\text{Somme des surfaces des pics du sucre} \times \text{Facteur de correction} \times \text{nb. de mg de sorbitol}}{\text{surface du pic de sorbitol}}$$

MONOSACCHARIDES STANDARDS GC (D-2)



Les résultats peuvent être exprimés sous plusieurs formes:

$$\% \text{ de monosacc. totaux} = \frac{\Sigma \text{ mg des sucres} \times 100}{\text{ng. de mg dans échantillon}}$$

$$\% \text{ d'un sucre dans l'échantillon} = \frac{\text{nb. de mg de sucre} \times 100}{\text{nb. de mg de l'échantillon}}$$

$$\% \text{ d'un sucre sur les monosacc.} = \frac{\text{nb. de mg du sucre} \times 100}{\text{nb. de mg de monosacc.}}$$

NOTE:

Dans les cas où il y a hydrolyse préalable de l'échantillon, on doit tenir compte du facteur de recouvrement des monosaccharides car il y a toujours des pertes. Il faut donc ajouter le facteur de recouvrement comme diviseur à la formule pour calculer le nombre de mg de sucre. Les facteurs de recouvrement de certains sucres sont représentés ci-après (1).

Sucre	F. de recouvrement
Arabinose	0.924
Galactose	0.957
Glucose*	0.950
Mannose	0.916
Xylose	0.866

Nous avons calculé un facteur de recouvrement inférieur (0.88) lors de l'hydrolyse de la cellulose Avicel.

---

(1) W.D. Moore, D.B. Johnson, Procedures for chemical analysis of wood and wood products, 1967, 67-045.

MÉTHODE #D-3

Analyse des composés aromatiques par chromatographie capillaire

But et applicabilité

Une colonne capillaire est un long tube de silice fondue ayant un faible diamètre et dont l'intérieur est enrobée d'une mince couche de la phase stationnaire. La longueur permet d'atteindre un nombre impressionnant de plateaux théoriques (> 100,000) d'où un pouvoir séparateur accru.

Le système que nous utilisons est un chromatographe HP-5890 A avec une colonne SPB-5 (équivalent: SE-54) de 30 m x 0.32 mm et un détecteur F.I.D.

Le volume d'échantillon injecté est de 0.1 à 0.2 µl en mode SPLIT avec un ratio de 1:100. Donc de 1 à 2 nl sont injectés dans la colonne. Jusqu'à maintenant nous avons une liste d'environ 100 composés aromatiques séparables par cette colonne. La quantification d'un produit peut être réalisée sur demande.

La chromatographie capillaire (groupe III) exige une formation adéquate compte-tenu de:

- travail avec des microquantités;
- sensibilité et fragilité de l'instrumentation;
- nombre important de paramètres à contrôler.

Préparation de l'appareil

- S'assurer que les cylindres de gaz (Hélium Zéro, Air Zéro et Hydrogène Zéro) sont à des pressions suffisantes pour le bon fonctionnement de l'appareil. Changer le cyclindre si la pression du manomètre indique 100 psi ou moins.

- Vérifier le septum de l'injecteur utilisé (A ou B) et changer au besoin. Il est recommandé de changer le septum une fois par semaine en utilisation normale (10 à 15 injections par jour).

- Pour la colonne capillaire utilisée actuellement, i.e. SPB-5 (0.32 mm x 30 m), les conditions opératoires sont les suivantes:

			Références dans Manuel d'Opération
Débit HELIUM	:	1.5 - 1.6 ml/min.	10-12
Split Ratio	:	1:100	10-15
Septum Purge	:	environ 5 ml/min.	10-13
Détecteur FID			
HYDROGENE	:	30 ml/min.	11-6
AIR	:	370-390 ml/min.	11-6
Make-Up Gas	:	60 ml/min. (Hélium)	11-3
Injecteur B	:	220°C	
Détecteur FID	:	220°C	
Four	:	65°C Température Initiale	
Température MAX:		210°C	

NOTE: Selon les produits à analyser, une programmation de température sera élaborée par le technicien (M. Trottier). Le fonctionnement du four est expliqué à la section 6.5 du Manuel d'opération.

- Une fois toutes les vérifications faites, vérifier le système analytique entier à l'aide de l'intégrateur HP 3392A. Pour ce faire, appuyer sur les touches:
  LIST WKFILE ENTER

- Vérifier aussi les paramètres pour les chromatogrammes:

ZERO	:	15
ATT 2+	:	1
CHT SP	:	0.4
PK WD	:	0.04
THRSH	:	0

Analyse

- Allumer le détecteur FID (voir section 11-9) et laisser stabiliser le système environ 30 minutes.

- Injecter entre 0.1 et 0.2 µl d'échantillon. S'assurer que l'échantillon à analyser est exempt de particule solide et compatible avec le type de colonne utilisée (polarité de l'échantillon, concentrations des constituants, point d'ébullition moyen de l'échantillon ou du solvant).

- Appuyer sur la touche START de l'intégrateur (ou du chromatographe) simultanément en injectant votre échantillon.

- L'analyse prendra fin automatiquement (en se servant des fonctions STOP TIME sur l'intégrateur) ou en appuyant sur la touche STOP de l'intégrateur ou du chromatographe.

  NOTE: La lecture du chapitre du Manuel d'opération traitant de l'opération sommaire du chromatographe est fortement recommandée. Pour plus d'information, quelques volumes sur le GC capillaire sont disponibles à la bibliothèque du 509.

Quantification

S'il est possible d'utiliser un standard interne, la quantification peut être totalement effectuée par l'intégrateur. Il est de toute façon conseillé de procéder de cette façon puisqu'il y a une grande incertitude sur le volume d'échantillon qui est réellement injecté lorsque l'on fonctionne en mode SPLIT.

Sécurité

1. Ne pas surcharger la colonne avec des solutions trop concentrées ou de poids moléculaires trop élevés.

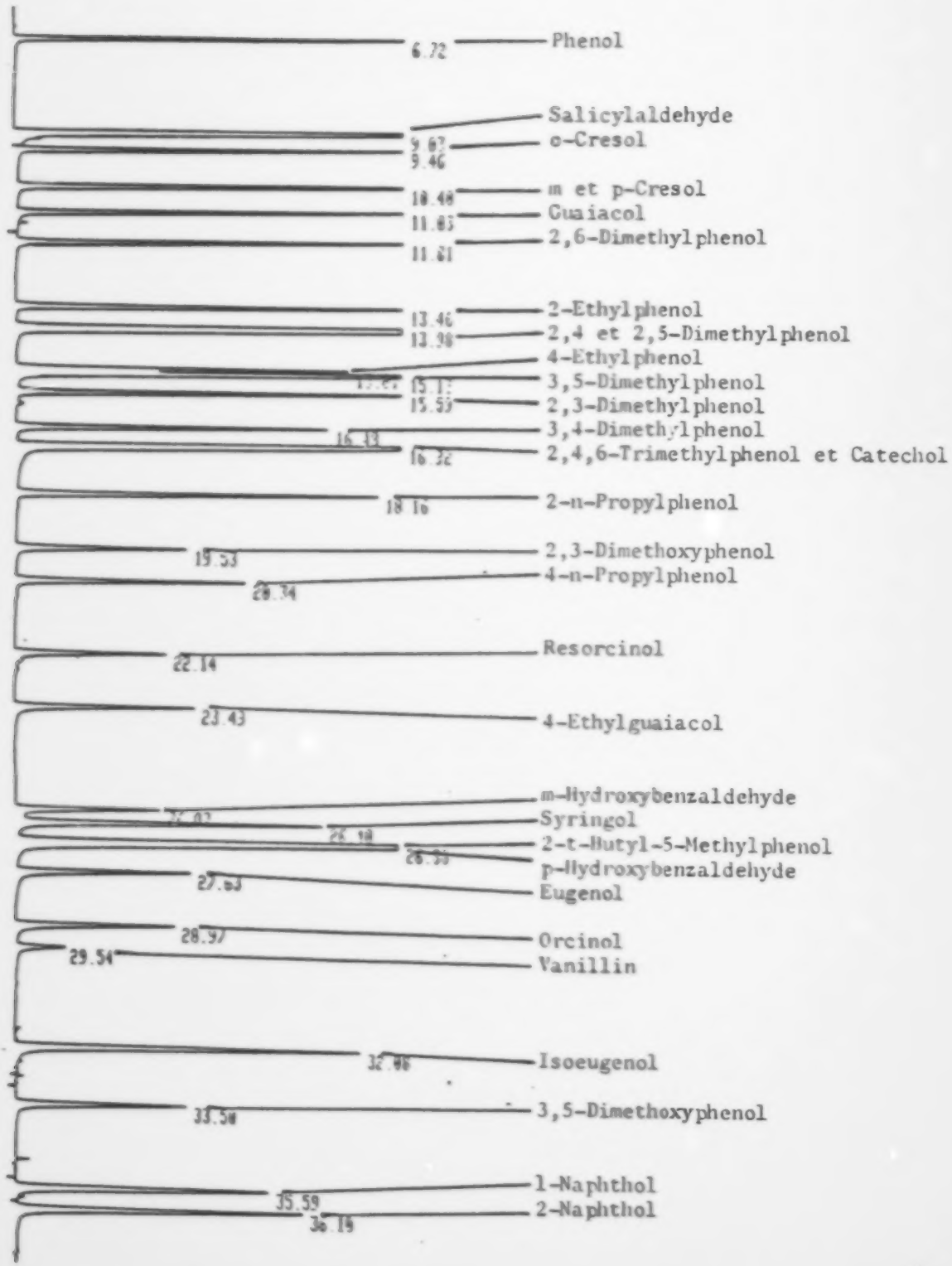
2. Eviter l'eau et l'oxygène dans la colonne par l'emploi de trappes adéquates (jamais d'échantillons en phase aqueuse!).

3. Eviter un excès de programmation de température. En effet un taux de chauffe trop rapide pourrait briser la colonne (> 5°C/min.).

4. S'assurer qu'il y a toujours un gaz porteur qui traverse la colonne, surtout dans de hautes températures d'utilisation.

NOTE: - La Figure 1 illustre une séparation de 30 dérivés phénoliques susceptibles d'être rencontrés dans nos échantillons.

PHENOLS STANDARDS GC (D-3)



Annexe II

Biomass 9 (1986) ?

Quantification of Residual Polymeric Families Present in Thermo-Mechanical and Chemically Pretreated Lignocellulosics via Thermal Analysis

J. Bouchard, S. Léger, E.Chornet

University of Sherbrooke. Chemical Engineering Department. Québec. Canada

and

R. P. Overend

Research
National Council. Ottawa. Canada

(Received: 14 September, 1985)

ABSTRACT

Different species of wood and wood residues derived from thermo-mechanical and chemical treatments were studied by thermal analysis (TG/DTG) in order to establish a simple and rapid method for determining the major constituents.It is shown that TG/DTG with well-defined conditions is an appropriate method to distinguish between lignin and carbohydrate and, with less precision, between cellulose and hemicelluloses for all the types of biomass studied, treated or untreated

INTRODUCTION

Woody tissues are largely composed of dead cells which consist of several layers and an intercellular material (middle lamella). Cellulose microfibrils embedded in a matrix of hemicelluloses and lignin form the main components of the cell walls.

The cellulose component, which is a macromolecule composed of linearly linked β-(1 → 4)-D-glucopyranose units, is chemically the same in all types of biomass except for its degree of polymerization and its structural arrangement (i.e. crystallinity). The chemical nature of the hemi-

Biomass 0144-4565/86/$03.50 — © Elsevier Applied Science Publishers Ltd, England, 1986. Printed in Great Britain

celluloses and lignin is quite variable: the hemicelluloses are glycosidic hetero-polymers mainly formed of glose in hardwoods; lignin is a randomly linked polymer with syringyl propane units in hardwoods.

Aggregation of cellulose within the microfibrils provides a crystalline structure which is highly resistant to acid penetration and enzymatic hydrolysis. The hemicelluloses are amorphous, have a lower molecular weight and could be hydrolysed under mild conditions.

Quantitative determination of these three polymeric families is still made via gravimetric techniques based on wet chemistry.[1,0,2] These methods, developed for cellulose and lignin determinations in the untreated raw materials, are tedious and time consuming when dealing with a large number of samples. Moreover, the methods are questionable when applied to lignocellulosics treated by thermo-mechanical, chemical (acid or base hydrolysis), or organosolvolytic approaches. Our objective is to develop a rapid and simple method to quantitatively determine the polymeric constituents present in treated lignocellulosics. The goal is to facilitate eventual process control for the selective fractionation of biomass into its constituents.

The analytical strategy is based on the fact that the three polymeric families have distinct decomposition temperature ranges.[3] The hemicelluloses are least resistant to thermal degradation, followed by cellulose and lignin.[4,5] The hemicelluloses decompose in the temperature range 270–330°C depending on the nature of the heteropolymer present and the experimental conditions.[6,7] Cellulose depolymerizes at about 320°C mainly to form anhydro sugars. In a dynamic flow system using appropriate heating rates, the char formation becomes small and a sharp peak can be observed in the DTG recording at 320°C.[8] Concerning the lignin, Arima[9] showed that the nature and the preparation of the lignin have a strong influence on the temperature of decomposition and that major changes take place over 350°C. Akita[10] demonstrated that the thermograms of wood and of recombined polymers in the same proportions are similar.

Concerning the application of thermal analysis to quantification of lignocellulosics, Hornof *et al.*[11] pioneered the correlation between thermal degradation patterns and lignin content of different pulps. Chauvette *et al.*[12] studied wood residues derived from liquefaction of *Populus tremuloides* by TG/DTG in order to establish a method for determining the major constituents. They suggested that TG/DTG analysis in a dynamic air atmosphere under appropriate conditions was a reliable method to distinguish between carbohydrate (holocellulose) and lignin. Based on these studies, a new methodology to quantify hemicelluloses, cellulose and lignin derivatives present in the treated lignocellulosic materials is proposed in this paper.

EXPERIMENTAL

Standard materials

The cellulose used to establish the calibration curves was obtained from three sources: Avicel, Sigma Chemicals Co. and from a fractionation process developed in our laboratories.[13] The lignin was from Iotech Co. and also prepared by acidified ethanol extractions in our laboratories.

Biomass substrate

The work reported here was mainly conducted with *Populus deltoides* and *Populus tremuloides*. We also extended the method to corn stover and two tropical wood species: *Eucaluptus saligna* and mixed varieties of *Wapa*.

Biomass treatment

Three experimental systems were used to treat the lignocellulosic materials: (1) A cascade reactor system[14,15,16] was used to treat aqueous suspensions containing 30–50 g of milled biomass in water. The treatment included; preparation of a suspension, preheated at a desired temperature, discharge through an orifice at a convenient pressure differential, reaction at a prescribed time and temperature schedules followed by rapid quenching; (2) A process development unit designed to thermo-mechanically treat medium-consistency aqueous suspensions of biomass at 1 litre min^{-1}, using homogenizing valves;[13] (3) a process development unit designed to treat biomass via solvolysis also using homogenizing valves.[17]

Thermal analysis system

The thermal analysis system used was a Metzsch-Gerätebau model STA409. The acquisition and treatment of data was made using a Hewlett-Packard system equipped with an HP-86B microcomputer and appropriate software initially developed by Netzsch but modified in our laboratory to suit our specific uses.

The operating conditions were as follows: 25 mg of sample, previously extracted over 4 h with boiling water in a Sohxlet apparatus and having a particle diameter of less than 0·5 mm, was placed in an open alumina crucible and covered with 10 mg of SiO_2. Air was passed through the system at 100 ml/min while the sample was heated at 10°C min^{-1}.

To obtain a constant heating rate of 10°C min^{-1} in the range of 175–750°C and to compensate for the lag-time between the temperatures of the furnace and the sample the following heating program for the furnace was used: 25°C to 250°C at 25°C min^{-1}; 6 min isotherm; 250°C to 800°C at 10°C min^{-1}.

RESULTS AND DISCUSSION

Quantification of lignin and carbohydrate

The method used focuses on the difference in the thermal degradation of cellulose and lignin. As shown in Fig. 1, the cellulose loses 62% of its weight sharply at 320°C. The weight loss from 200°C to the elbow, is termed ΔWe. Further thermal degradation takes place slowly at higher temperatures. With the conditions used, the value of ΔWe for cellulose is independent of cellulose type (either commercial or purified by different methods) and of degree of polymerisation (DP) beyond DP = 200.

Figure 2 shows the thermogram of Iotech lignin and ethanol–HCL extracted lignin (from our processes). The Iotech lignin seems more resistant to thermal degradation but the weight loss curves are similar. We decided to use ethanol–HCl extracted lignin for our calibration curves because it seems nearer to native lignin than Iotech lignin due to

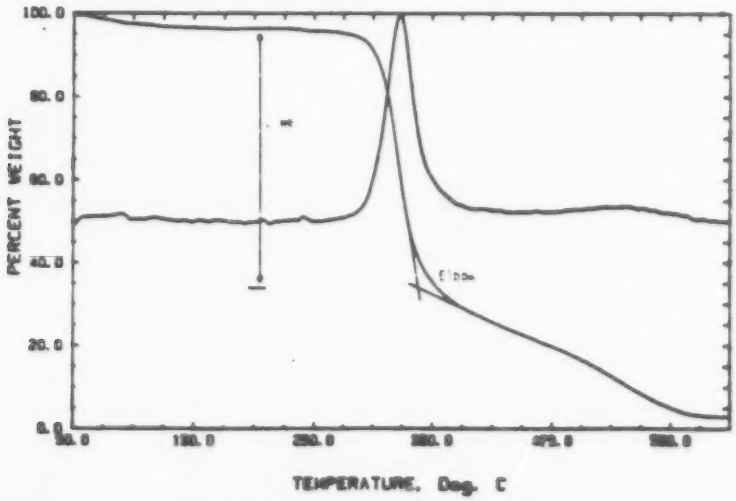


Fig. 1. Thermogram of cellulose (in air).

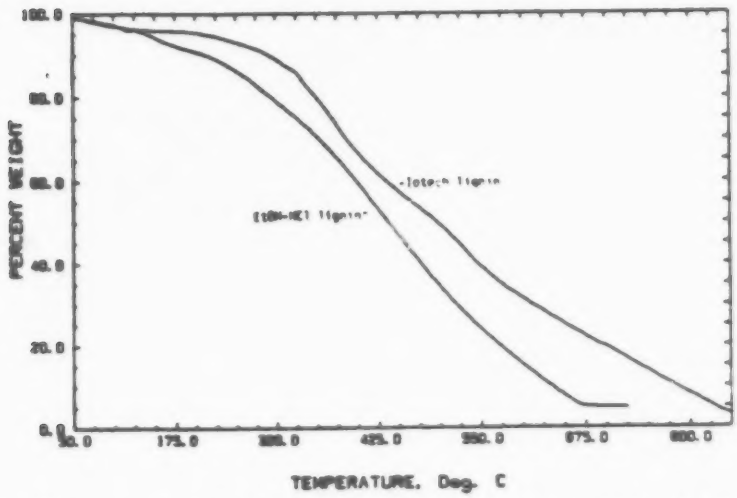


Fig. 2. Thermogram of two standard lignins: Iotech and extracted with acidified-ethanol extracted from our own laboratory preparations

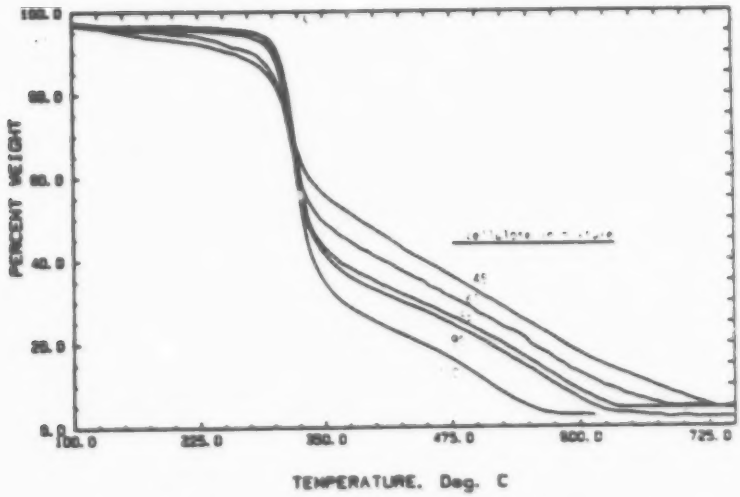


Fig. 3. Thermogram of cellulose and lignin mixtures

the low severity conditions used in our treatment. Figure 3 shows the thermograms of cellulose mixed with different concentrations of lignin from 0% to 55%. We observed that the ΔE value decreases with lignin content. When we plotted (Fig. 4) the weight loss, ΔWe, versus the cellu-

ΔWe →

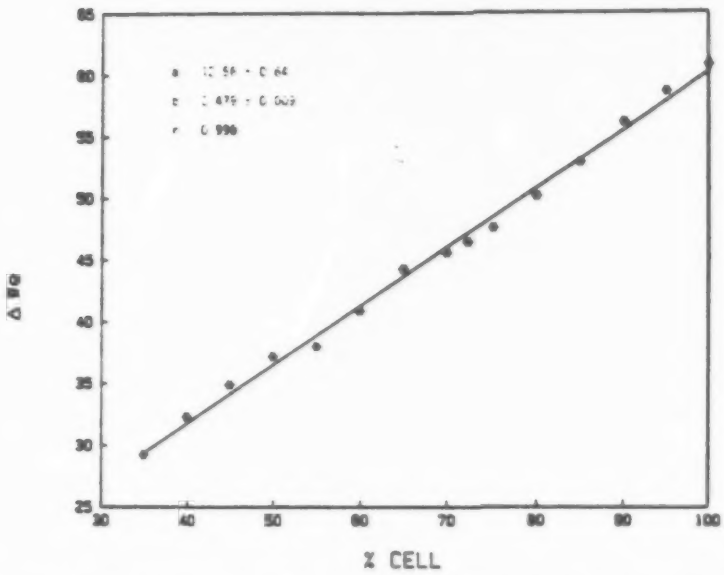


Fig. 4. Correlation between weight losses (ΔWe) and percentage cellulose content (a is the intercept, b is the slope and r is the correlation coefficient of the straight line calculated by least square linear regression analysis).

lose concentration from 35% to 100%, we obtained a straight line with a good fit. We are thus able to determine the holocellulose/lignin ratio within a precision of 2%.

Quantification of cellulose and hemicelluloses

The quantification between cellulose and hemicelluloses is more difficult. Two approaches have been used.

(i) At low concentrations of hemicelluloses, we determined a cut-off point at a temperature of 300°C. At this point the pure cellulose had lost 5% weight (Fig. 1). The presence of hemicelluloses will increase this loss because, under our conditions, they degrade below 300°C. Figure 5 shows a thermogram of a residue of *Populus tremuloides* obtained by thermo-mechanical fractionation, a process aiming at solubilizaztion of the hemicelluloses. We can observe that 5·4% (= 10·4% − 5·0%) of the hemicelluloses still remains in the residue.

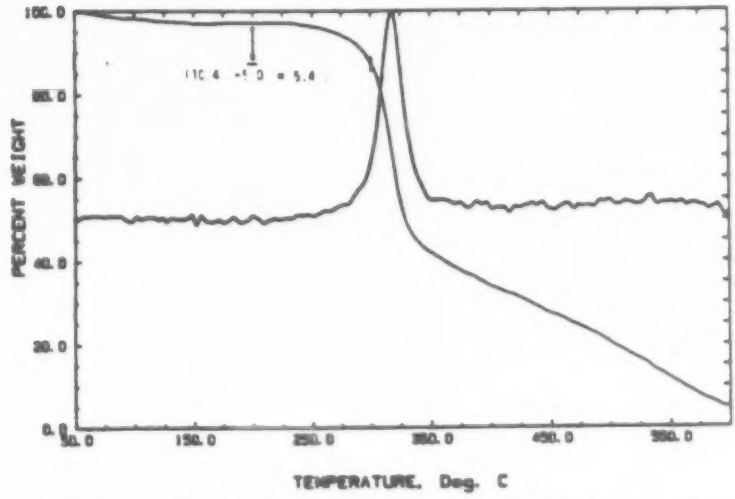


Fig. 5. Thermogram of a residue of *Populus tremuloides* obtained by fractionation (as decribed in text) and containing 5·4% of hemicelluloses.

(ii) At concentrations of hemicelluloses exceeding 10%, a change in the slope of the thermogram becomes apparent below 320°C. The DTG is applied to determine precisely the inflexion point which is a measure of the hemicelluloses content (Fig. 6(a)).

The quantification of cellulose and hemicelluloses cannot so far be accomplished with the precision reached for the quantification of lignin and holocellulose. We propose to develop a deconvolution software for the DTG signal that will correct this imprecision which, in methods (i) and (ii), ranges between 3% and 5%.

Application of the technique to product control following solvolytic treatment

Figures 6(a)–(d) show four levels of severity during solvolysis of *Populus deltoides* using ethylene glycol as solvent. The results are summarized in Table 1. The levels of severity are as follows: Fig. 6(a) wood untreated; Fig. 6(b) after thermal treatment in ethylene glycol at 216°C for 2 h; Fig. 6(c) after the passage of all the material through a homogenizing valve at 216°C; Fig. 6(d) after the final treatment at 320°C.

1986 Printed in Great Britain

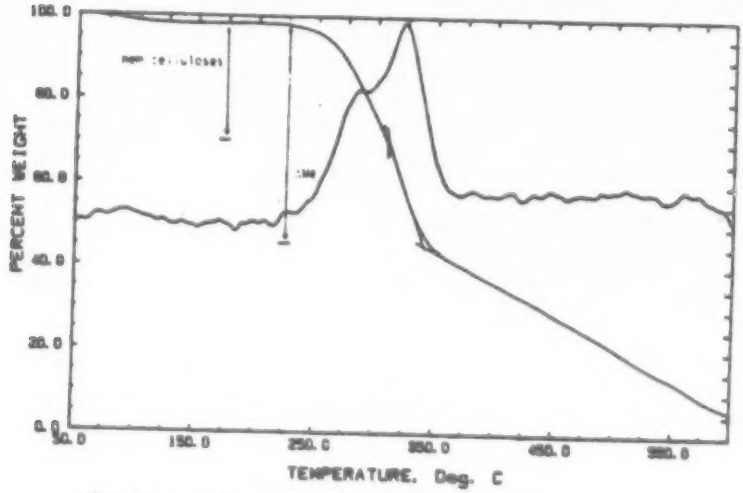


Fig. 6(a). Thermogram of untreated *Populus deltoides*.

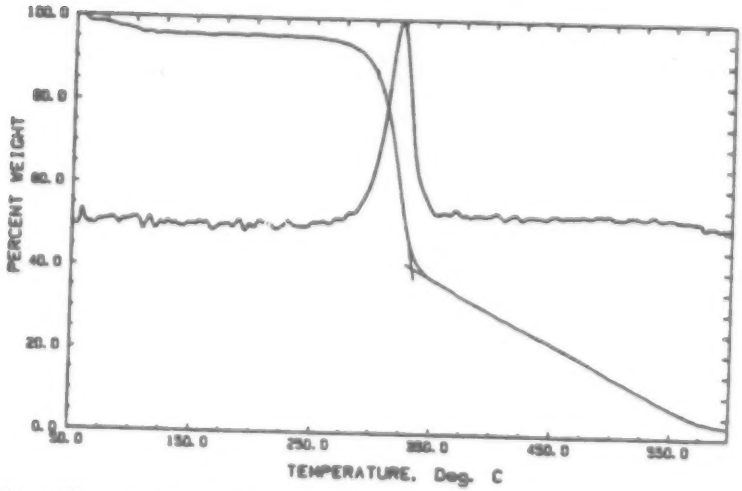


Fig. 6(b). Thermogram of the residue after thermal treatment at 216°C in ethylene glycol.

Discussion

The agreement between our method and standard wet methods is good when raw materials are the subject of analysis. The lignin determination by the thermal method gives lower results than the Klason lignin method

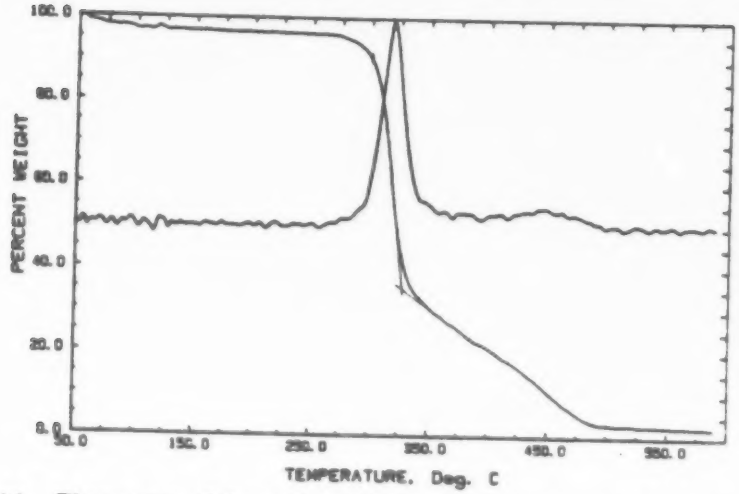


Fig. 6(c). Thermogram of the residue after passage through homogenizing valve at 216°C.

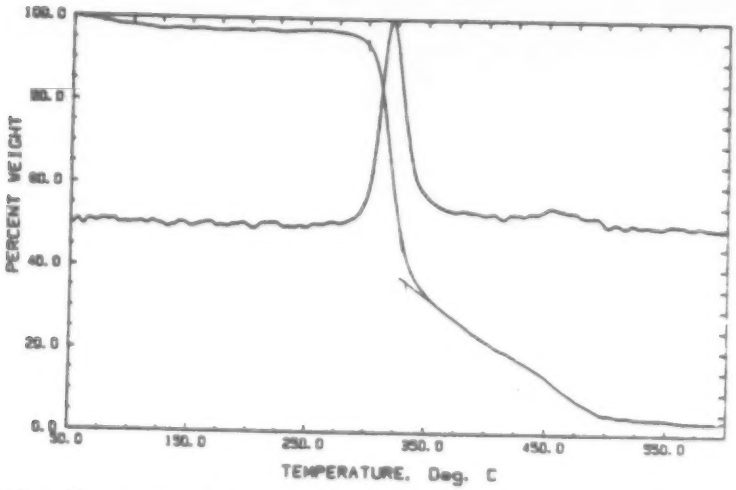


Fig. 6(d). Thermogram of the residue after the final treatment at 320°C in ethylene glycol.

when dosed on the thermo-mechanical or chemically treated materials.It is likely that the Klason lignin determination cannot differentiate between lignin and new lignin–carbohydrate complexes which might be induced via the thermo-mechanical treatments imposed on the lignocellulosic materials.

1986 Printed in Great Britain

TABLE 1
Quantification of Constituents in Biomass Residue Derived from the UDES* Solvolytic Process

Step	*Holocellulose* (%)	*Lignin* (%)	*Hemicellulose* (%)	*Cellulose* (%)	*DP of cellulose*
a	82·2	17·8	29·0	53·2	—
b	87·1	12·9	7·0	80·1	—
c	98·3	1·7	nil	98·3	1350
d	97·9	2·1	nil	97·9	250

*Originating from the University of Sherbrooke.

We have tested our method with five different types of biomass: *Populus deltoides* and *tremuloids*, *Eucalyptus saligna*, *Wapa* and corn stover. We consider that the method can be easily generalized, beyond the lower limit of 30% in cellulose content, to all types of treated and untreated biomass including pulp and paper.

The thermal methodology proposed has the following advantages: rapid execution (90 min per sample), simplicity, reproducibility and no use of chemicals. Furthermore, this method offers great reliability when applied to relative measurements of these polymers for subsequent product upgrading via fractionation, hydrolysis and solvolysis.

CONCLUSION

It has been shown that thermal analysis using well-defined conditions is an appropriate method to quantify lignin and holocellulose and, with less precision, cellulose and hemicelluloses present in treated and untreated biomass materials. It must therefore be concluded that this thermal method should become a rapid and simple quantitative method for the determination of major constituents in treated wood.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are indebted to the National Research Council of Canada, the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and the Ministry of Education of Québec (FCAR) for financial support. Mr S. T. Nguyen and Mrs L. Bedford are acknowledged for their technical contributions related to TG analysis and standard methods, respectively.

Thanks are expressed to the Centre Technique Forestier Tropical (Paris) for the eucalyptus and *Wapa* samples, and finally, we wish to acknowledge the initial work and suggestions of our colleagues G. Chauvette, J. Khoramy and Prof. H. Ménard concerning the analytical potential of TGA techniques when applied to biomass substrates.

REFERENCES

1. Anon. (1956). (*a*) ANSI/ASTM standard D-1104. *Standard test method for holocellulose in wood*. (*b*) ANSI/ASTM standard D-1106. *Standard test method for lignin in wood*.
2. Anon. (1960). ANSI/ASTM standard D-1103. *Standard test method for alpha-cellulose in wood*.
3. Shafizadeh, F. & F. W. de Groot (1976). In: *Thermal uses and properties of carbohydrates and lignin*. F. Shafizadeh, K. V. Sarkanen and D. A. Tillman (eds.). Academic Press, London, pp. 1–15.
4. Tang, W. K. & Eickner, H. W. (1968). *Effect of inorganic salts on pyrolysis of wood, cellulose and lignin by differential thermal analysis*. Forest Prod. Lab. Madison, WI. US Forest Serv. Res. Pap. FPL82, 30 pp.
5. Nemeth, K. & Szendrey, I. (1973). *Erdeszeti Faipari Egy. Tud. Kozl.*, **3**, 117.
6. Shimizu, K. (1975). *Ringyo Shikenjo Kenkyo Hokoku*, **272**, 1.
7. Shafizadeh, F. & McGinnis, G. D. (1971). *Adv. Carbohydr. Chem.*, **26**, 297.
8. Dollimore, D. & Hoat, J. M. (1978). *Thermochimica Acta*, **45**, 87.
9. Arima., T. (1973). *Mokuzai Gakkaishi*, **19**., 435.
10. Akita, K. (1959). *Rep. Fire Res. Inst. Japan*, **9**, 99.
11. Hornof, V., Kokta, B. V., Valade, J. L. & Fassen, J. L. (1977). *Thermochimica Acta*, **19**, 63.
12. Chauvette, G., Heitz, M., Rubio, M., Khorami, J., Chornet, E. & Ménard, H. (1985). *Thermochimica Acta*, **84**, 1.
13. Koeberle, P., Meloche, F., Chauvette, G., Ménard, H., Chornet, E., Jaulin, L., Heitz, M. & Overend, R. P. (1984). In: *Fifth Canadian bioenergy R&D seminar*. S. Hasnain (ed.), Elsevier Applied Science Publishers, pp. 263–6.
14. Léger, S. (1985). *Déshydratation de la tourbe par carbonisation à l'état humide*. MSc Thesis, Univ. of Sherbrooke, Québec.
15. Abatzoglou, N. (1985). *Aspects cinétique de l'hydrolyse acide de la cellulose*. MSc thesis, Univ. of Sherbrooke, Québec.
16. Chornet, E., Eugène, D. & Overend, R. P. (1985). In: *Fundamentals of thermochemical biomass conversion*. R. P. Overend, T. A. Milne and L. K. Mudge (eds), Elsevier Applied Science Publishers, pp. 465–8.
17. Chornet, E., Eugène, D., Lemonnier, J. P., Vanasse, C., Heitz, M. & Overend, R. P. (1984). In: *Fifth Canadian bioenergy R&D seminar*. S. Hasnain (ed.), Elsevier Applied Science Publishers, pp. 465–8.

Biomass 0144-4565/86/$03.50 — © Elsevier Applied Science Publishers Ltd, England, 1986. Printed in Great Britain